

Formação sobre o ensaio: Xpert® Xpress Strep A

Apenas para utilização US-IVD e CE-IVD



Agenda da formação

- **Xpert Xpress Strep A**
 - 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[®] Xpress Strep A e os kits de colheita de amostras
 - Cumprir as devidas precauções de segurança no laboratório
 - Colher e transportar uma amostra apropriada
 - Preparar um cartucho e executar o ensaio Xpert Xpress Strep A
 - Comunicar os vários resultados gerados pelo software
 - Compreender a estratégia de controlo do Xpert Xpress Strep A

A solução Cepheid



- Detecção de ADN de *Streptococcus pyogenes*
- Controlos internos integrados para cada amostra
 - Controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control)
 - Controlo de processamento da amostra (SPC — Sample Processing)
- O sistema de cartucho fechado minimiza o risco de contaminação
- Conclusão antecipada do ensaio
- Resultados a pedido
- Acesso aleatório

Utilização prevista

- O ensaio Xpert Xpress Strep A, realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert, é um teste de diagnóstico qualitativo *in vitro* para detecção de *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* β -hemolítico do Grupo A, estreptococos A) em amostras de esfregaço faríngeo de pacientes com sinais e sintomas de faringite.
- O ensaio Xpert Xpress Strep A utiliza uma reação em cadeia da polimerase (PCR) automatizada em tempo real para detetar ADN de *Streptococcus pyogenes*.

Requisitos para o Xpert Xpress Strep A

Sistemas GeneXpert

- Software GeneXpert Dx v4.7b ou posterior
- Software Xpertise v6.4b ou posterior

Kits de teste

- XPRSTREPA-CE-10

Colheita da amostra (necessários, mas não fornecidos)

- Sistema Copan de colheita e transporte de zaragatoa em eluição em meio de Amies líquido (ESwab™) (Copan 480CE ou Copan 480C)

Outros materiais

- Equipamento de proteção individual (EPI)
- Lixívia diluída na razão de 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 bata e luvas limpas
- 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

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

Conteúdo, conservação e manuseamento do kit



Conteúdo do Xpert Xpress Strep A

	Xpert Xpress Strep A
Número de catálogo	XPRSTREPA-CE-10
Cartuchos por kit	10
Pipetas de transferência	12
CD	Xpert Xpress Strep A Ficheiro de definição do ensaio (Assay Definition File, ADF)
	Instruções de importação do ficheiro de definição do ensaio
	Folheto informativo



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 Xpress Strep A

- Conserve os cartuchos e reagentes do Xpert Xpress Strep A 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 Xpert Xpress Strep A 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
 - esteja fora do prazo de validade
- Não reutilize pipetas

Elimine os cartuchos e reagentes do Xpert Xpress Strep A de acordo com as orientações da instituição e do país relativas à eliminação de materiais com risco biológico

Limitações do Xpert Xpress Strep A

- O Xpert Xpress Strep A foi validado apenas com esfregaços faríngeos utilizando o procedimento recomendado pela Cepheid indicado no folheto informativo.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador ou da sonda podem afetar a deteção de estirpes novas ou desconhecidas de *Streptococcus pyogenes*, originando resultados falsos negativos.

Para obter informação detalhada, consultar o folheto informativo em vigor

Colheita, conservação e transporte de amostras

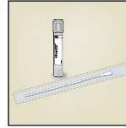


Colheita de amostras de esfregaços faríngeos

Colheita de amostras de esfregaços faríngeos

Xpert Xpress Strep A

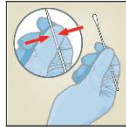
1 Utilize o sistema de colheita e transporte ESwab (Copan 480C, 480CE ou 480CFA).



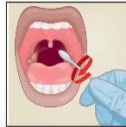
2 Retire a zaragatoa, tendo cuidado para não tocar na ponta da zaragatoa nem posar a zaragatoa.



3 Segure a zaragatoa na sua mão, colocando o polegar e o dedo indicador na parte média da haste da zaragatoa sobre a linha perforada.



4 Passe a zaragatoa pela faringe posterior, amígdalas ou outras áreas inflamadas, conforme se mostra. Evite tocar com a zaragatoa na língua, bochechas e dentes durante a colheita de amostras.



5 Retire a tampa do tubo. Não coloque a tampa com o lado aberto para baixo nem toque no seu interior. Introduza a zaragatoa no tubo que contém o meio de transporte.



6 Parta a haste da zaragatoa na linha pré-marcada, dobrando-a contra a parede do tubo.



7 Volte a colocar a tampa no tubo e aperte-a bem.



8 Temperatura de transporte e conservação de amostras (°C)
15 °C a 30 °C até 48 horas
2 °C a 8 °C durante até 6 dias

Colheita de amostras de esfregaços faríngeos



Utilize o sistema de colheita e transporte ESwab em meio líquido (Copan 480CE ou Copan 480C)

1. Retire a zaragatoa do invólucro
2. Use a zaragatoa para recolher esfregaço da faringe posterior, amígdalas e outras áreas inflamadas

Evite tocar com a zaragatoa na língua, bochechas e dentes durante a colheita de amostras
3. Destape o tubo contendo o meio de transporte
4. Coloque a zaragatoa no tubo para transporte contendo o meio de transporte de Amies líquido e parta a zaragatoa na linha marcada indicada

Nota: Não coloque várias zaragatoas no tubo para transporte.
5. Tape o tubo de meio de transporte

Transporte e conservação de amostras

Dispositivo de colheita de amostras	Temperatura de transporte e conservação de amostras (°C)	Tempo de conservação de amostras
ESwab (Copan 480CE ou Copan 480C)	15 °C-30 °C 	Até 48 horas
	2 °C-8 °C 	Até 6 dias



Preparação do cartucho



Preparação do cartucho Xpert Xpress Strep A

Preparação do cartucho Xpert® Xpress Strep A

- Xpert Xpress Strep A

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

Poderá obter um exemplar da FDS em www.cephheid.com ou www.cephheidinternational.com

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

Delegação na Europa
+33 563 825 319
support@cephheid.com



- 1 Obtenha um cartucho e uma pipeta de transferência de 300 µl (fornecida).



© 2018 Cepheid

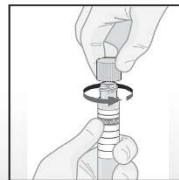
- 2 Agite vigorosamente o tubo para transporte da amostra durante 5 segundos.



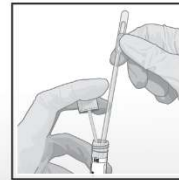
- 3 Abra a tampa do cartucho.



- 4 Desenrosque a tampa (não remova a tampa).



- 5 Levante a tampa com a zaragatoa fixa, se aplicável. Aspire 300 µl da amostra (uma extração).



- 6 Esvazie a pipeta para dentro da câmara de amostras do cartucho.

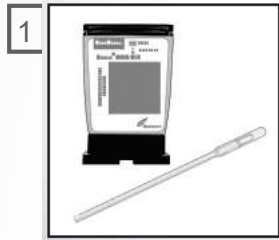


- 7 Feche a tampa do cartucho.



301-6495P, Rev. B junho de 2018

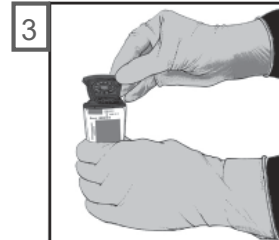
Preparação do cartucho Xpert Xpress Strep A



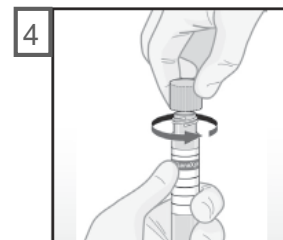
1 Obtenha um cartucho e uma pipeta de transferência de 300 µl (fornecida).



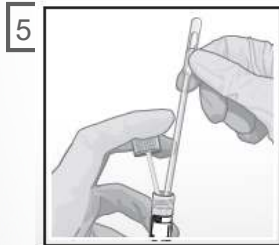
2 Agite vigorosamente o tubo para transporte durante 5 segundos.



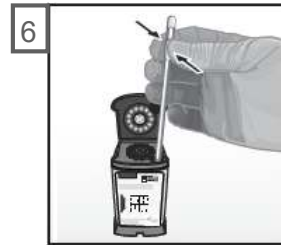
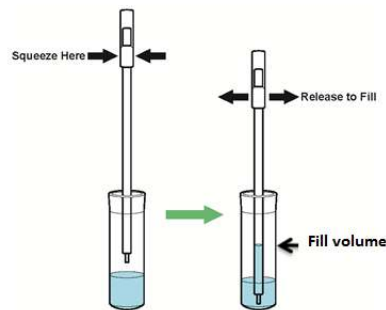
3 Abra a tampa do cartucho.



4 Desenrosque a tampa (não a remova).



5 Levante a tampa com a zaragatoa fixa, se aplicável. Aspire 300 µl da amostra (uma extração).



6 Esvazie a pipeta na câmara de amostra do cartucho.



7 Feche a tampa do cartucho.

Executar um teste

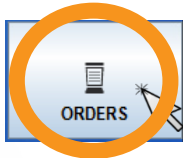
1 Criar teste (Create Test)

GeneXpert



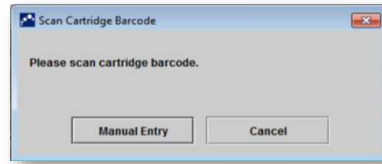
Inicie o teste dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho

GeneXpert
Infinity

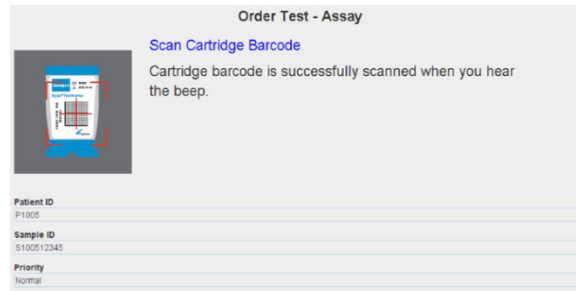


Coloque o cartucho na correia transportadora dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho

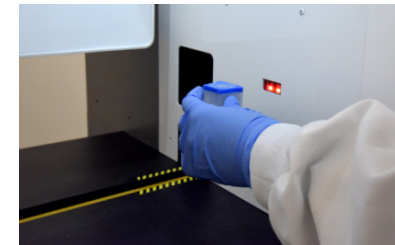
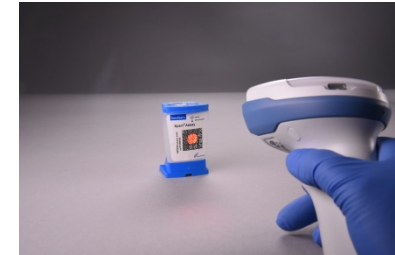
2 Ler códigos de barras: ID do cartucho/paciente e/ou amostra



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



3 Leia 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 Xpert Xpress Strep A é selecionado automaticamente depois de o cartucho ser lido

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]
- Name: [Empty]
- Select Assay: Xpert Xpress Strep A
- Select Module: A3
- Reagent Lot ID*: 16119
- Expiration Date*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Other S: [Empty]
- Notes: [Empty]

At the bottom, there are two buttons: 'Start Test' and 'Scan Cartridge Barcode'. An orange box highlights the 'Start Test' button, and a mouse cursor is pointing at it.



Criar um teste no software Xpertise

4 Preencha os campos, conforme necessário

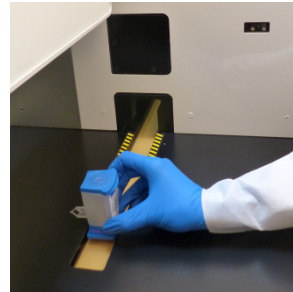
5 O protocolo do Xpress Strep A é selecionado automaticamente

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* Xpert Xpress Strep A	
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



Eliminação de resíduos

- As amostras biológicas, os dispositivos de colheita de amostras 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).

Controlos de qualidade



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.

Estratégia de controlo do Xpert Xpress Strep A

CONTROL

- 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
 - Controlos de verificação da sonda (PCC — Probe Check Controls)
 - Controlo de processamento da amostra (SPC – Sample Processing Control)

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)**
 - Verificam o processamento adequado da amostra
 - Deteta a inibição da PCR
 - Deve ser positivo numa amostra negativa
 - Pode ser negativo ou positivo numa amostra positiva

Controlos externos disponíveis no mercado

Fornecedor	Referência	Configuração	Conservação
ZeptoMetrix	NATSPY-6MC (Controlo positivo)	0,5 ml	2 °C–8 °C
	NATSDG-6MC (Controlo negativo)	0,5 ml	2 °C–8 °C

1. *Obtenha 1 frasco do material de controlo e agite-o vigorosamente durante 5 segundos.*
2. *Abra a tampa do cartucho.*
3. *Transfira 300 µl do controlo para a câmara de amostra do cartucho, utilizando a pipeta de transferência fornecida no kit Xpert Xpress Strep A.*
4. *Feche a tampa e inicie o teste no GeneXpert.*

Para minimizar a degradação do material de controlo, volte a colocar qualquer amostra não usada nas condições de conservação recomendadas imediatamente após a utilização.

- *Estão igualmente disponíveis outros fornecedores de material de controlo de qualidade, para além do supracitado.*
- *Devem ser utilizados controlos externos de acordo com as exigências de organizações de acreditação locais, estatais, conforme aplicável.*

Interpretação dos resultados



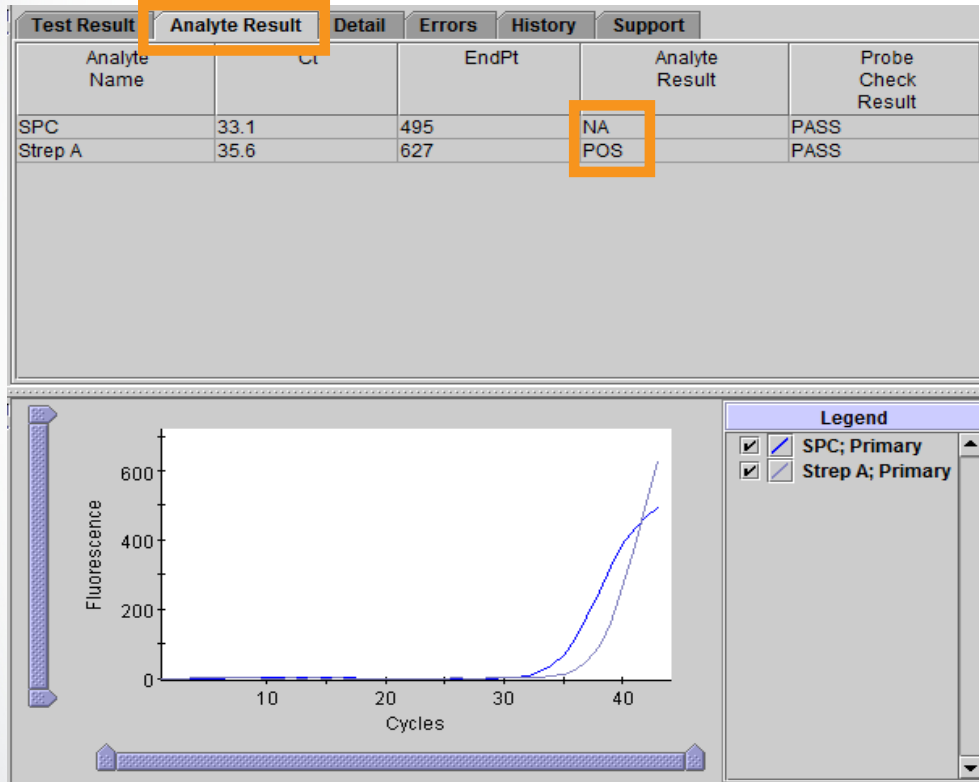
Sumário dos resultados

Resultado apresentado	Estreptococos A	SPC
Estreptococos A DETETADO (Strep A DETECTED)	+	+/-
Estreptococos A NÃO DETETADO (Strep A NOT DETECTED)	-	+
INVÁLIDO (INVALID)	-	-
ERRO (ERROR)	SEM RESULTADO (NO RESULT)	SEM RESULTADO (NO RESULT)
SEM RESULTADO (NO RESULT)	SEM RESULTADO (NO RESULT)	SEM RESULTADO (NO RESULT)

Estreptococos A DETETADO (Strep A DETECTED)

Test Result

Strep A DETECTED

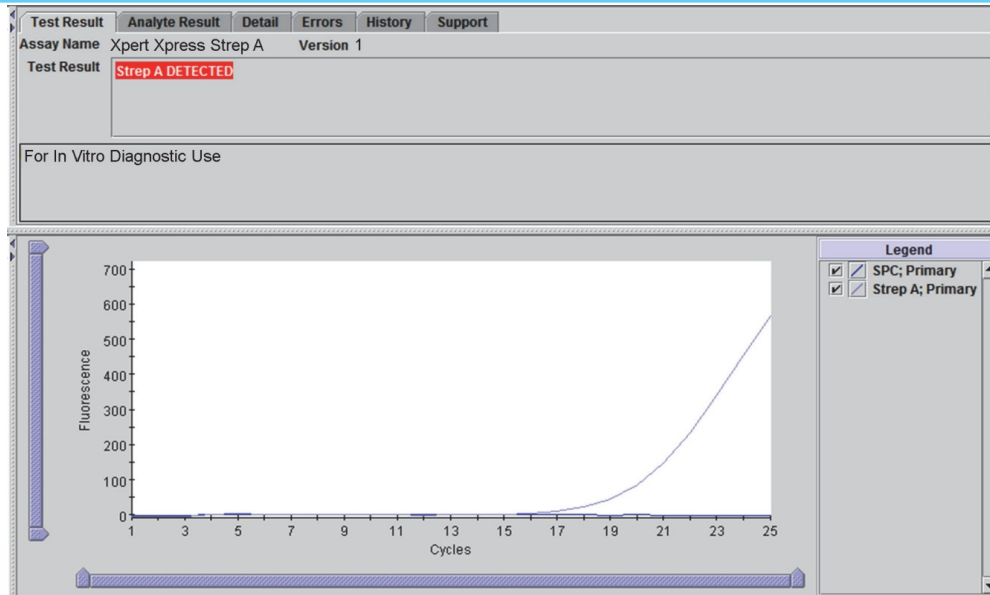


O alvo estreptococos A está presente dentro da amostra:

- SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal do SPC pois a amplificação do estreptococos A pode competir com este controlo.
- Verificação da sonda: APROVADO (PASS)

Conclusão antecipada do ensaio (EAT, Early Assay Termination)

- Os resultados positivos podem estar disponíveis antes de decorridos 24 minutos (dependendo da titulação da amostra)
- A EAT é ativada quando se atinge o limiar predeterminado para um resultado de teste positivo antes de terem sido concluídos os 43 ciclos completos de PCR



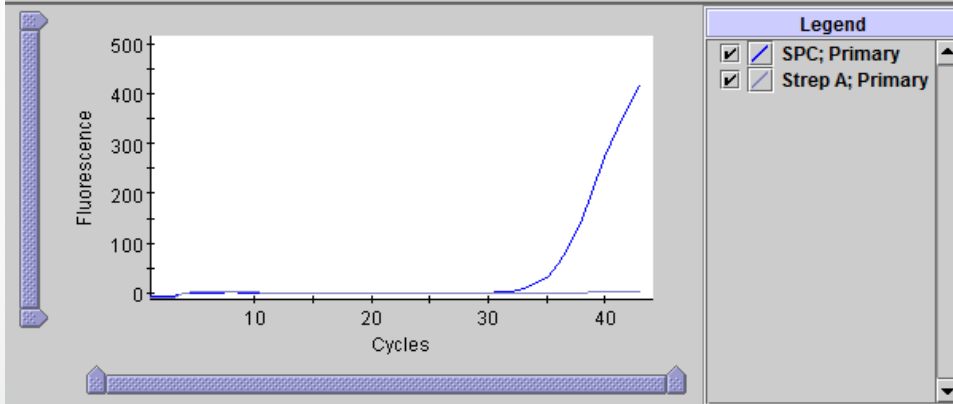
Estreptococos A NÃO DETETADO (Strep A NOT DETECTED)

Test Result **Strep A NOT DETECTED**

Analyte Name	CT	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
SPC	35.2	416	PASS	PASS
Strep A	0.0	3	PASS NEG	PASS

O alvo estreptococos A NÃO é detetado dentro da amostra:

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



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)

Test Result **INVALID**

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
SPC	0.0	13	FAIL		PASS
Strep A	0.0	2	INVALID		PASS

Não é possível determinar a presença ou ausência de alvo estreptococos A

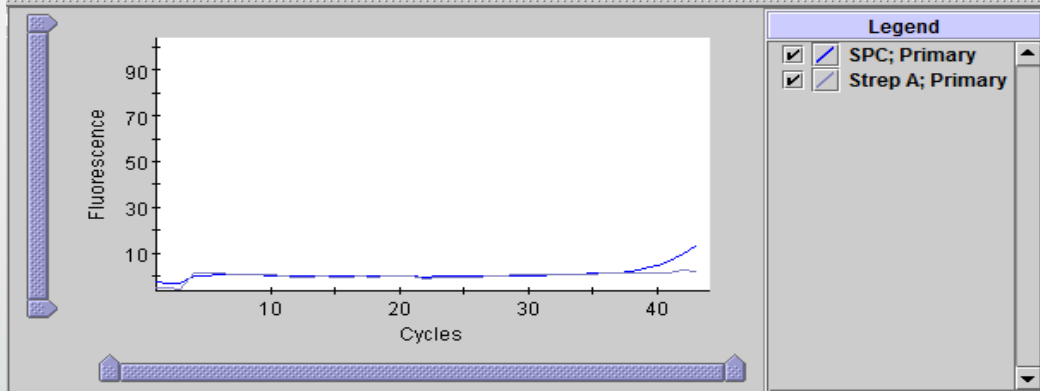
- SPC: NÃO APROVADO (FAIL). O SPC não preenche os critérios de aceitação.
- Verificação da sonda: APROVADO (PASS)

Causas possíveis

- Colheita incorreta da amostra
- Preparação incorreta da amostra
- Conservação incorreta dos cartuchos
- Processamento ineficiente da amostra no cartucho
- Presença de substâncias interferente na amostra

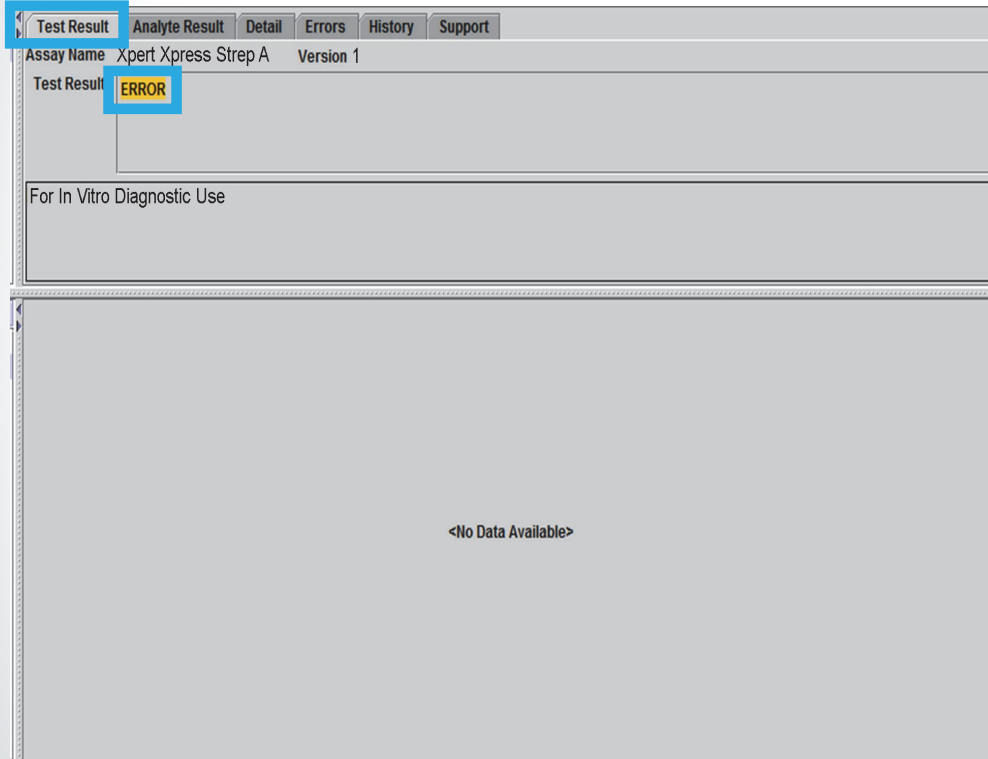
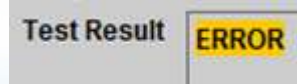
Solução

- Repetir o teste com um cartucho novo e uma amostra nova.



Para obter informações mais completas, consulte o folheto informativo e o manual do utilizador

ERRO (ERROR)



Não foi possível determinar a presença ou ausência de estreptococos A

- Estreptococos A – SEM RESULTADO (NO RESULT)
- SEM RESULTADO para SPC (SPC: NO RESULT)

Causas possíveis

Verificação da sonda —NÃO APROVADO (FAIL)

- A ausência de esferas de iniciador/sonda ou enzima
- A reidratação incompleta das esferas
- O enchimento incompleto do tubo de reação
- Problemas com a integridade da sonda ou a estabilidade do corante

Verificação da sonda: APROVADO (PASS)

- Verificar o módulo do sistema GeneXpert
- Limite máximo de pressão excedeu o intervalo aceitável

Solução

- Repita o teste com um cartucho novo e uma amostra nova

Para obter informações mais completas, consulte o folheto informativo e o manual do utilizador

SEM RESULTADO (NO RESULT)

Test Result **NO RESULT**

The screenshot shows the software interface for the Xpert Xpress Strep A assay. At the top, there are navigation tabs: 'Test Result' (highlighted), 'Analyte Result', 'Detail', 'Errors', 'History', and 'Support'. Below the tabs, the assay name is 'Xpert Xpress Strep A' and the version is 'Version 1'. A 'Test Result' box displays 'NO RESULT'. Below this, there is a section for 'For In Vitro Diagnostic Use'. The main area of the screen is mostly empty, with the text '<No Data Available>' centered at the bottom.

Não foi possível determinar a presença ou ausência de estreptococos A.

- Estreptococos A – SEM RESULTADO (NO RESULT)
- SEM RESULTADO (NO RESULT) para SPC
- Verificação da sonda: NA (não aplicável)

Causa possível

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
- Repita o teste com um cartucho novo e uma amostra nova

Procedimento de repetição do teste Xpert Xpress Strep A

1

Elimine o cartucho usado

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

2



Obtenha a amostra residual, misture de acordo com o folheto informativo

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



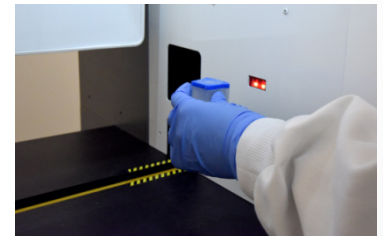
Obtenha um cartucho novo

Processe a amostra de acordo com o folheto informativo

4



Execute o teste no sistema



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 Service Tag (etiqueta de serviço) do Computador
- Registre 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 (AU) +0800 001 028 (NZ)	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
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

