

Formação técnica sobre o ensaio Xpert® HCV VL Fingerstick

Apenas para utilização com CE-IVD



Agenda da formação

- **Xpert® HCV VL Fingerstick**
 - Utilidade clínica
 - 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, o utilizador será capaz de:**
 - Conservar e manusear devidamente o kit do cartucho Xpert® HCV VL Fingerstick
 - Cumprir as devidas precauções de segurança no laboratório
 - Colher e transportar as amostras apropriadas
 - Preparar um cartucho e executar o ensaio
 - Comunicar os vários resultados gerados pelo software
 - Compreender a estratégia de controlo do ensaio

A solução Cepheid



- Deteta e quantifica
 - RNA de VHC
 - Resultados dentro do intervalo linear de 100 UI/ml a 100 000 000 UI/ml de RNA de VHC*
- Controlos integrados para cada amostra
 - Adequação do volume da amostra (SVA — Sample Volume Adequacy)
 - Controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control)
 - Padrões quantitativos internos (IQS — Internal Quantitative Standards) alto (H — High) e baixo (L — Low)
- Resultados em cerca de 60 minutos
- O sistema de cartucho fechado minimiza o risco de contaminação
- Resultados a pedido
- Acesso aleatório

* O ensaio foi padronizado em conformidade com a 4.ª Norma Internacional para VHC da Organização Mundial de Saúde (OMS) (código NIBSC: 06/102).6

Utilização prevista

O ensaio Xpert HCV VL Fingerstick (FS) é um ensaio *in vitro* de reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR) para a **deteção e quantificação de RNA do vírus da hepatite C (VHC) em sangue total capilar humano colhido com EDTA por punção digital e em sangue total venoso humano colhido com EDTA de indivíduos infetados pelo VHC utilizando sistemas de instrumento GeneXpert® automatizados.**

O ensaio Xpert HCV VL Fingerstick destina-se a ser utilizado como auxiliar no **diagnóstico inicial** de indivíduos com alto risco de infeção pelo VHC ou em indivíduos positivos para anticorpos anti-VHC. A deteção de ARN de VHC indica que o vírus está a replicar-se, **evidenciando, assim, infeção ativa.**

O ensaio Xpert HCV VL Fingerstick destina-se a ser utilizado como auxiliar no **controlo de pacientes infetados pelo VHC submetidos a terapêutica antiviral.** O teste mede os níveis de RNA de VHC durante a viremia e o tratamento e pode ser utilizado para **prever respostas virológicas sustentadas e não sustentadas à terapêutica para o VHC.**

Utilização prevista - Observações

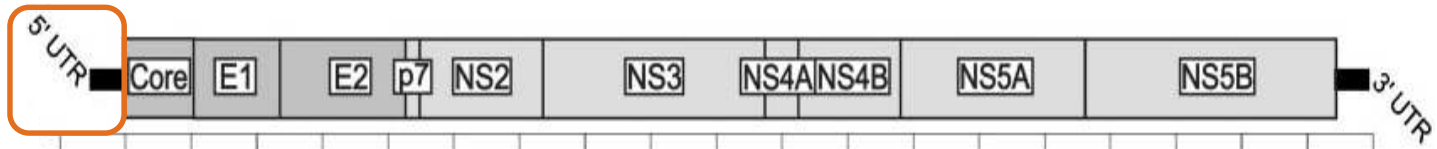
- O ensaio Xpert HCV VL Fingerstick destina-se a ser utilizado por **profissionais de laboratório ou profissionais de cuidados de saúde com formação específica**.
- O ensaio **não** se destina a testes de rastreio de VHC em sangue de dadores.
- O ensaio consegue quantificar o ARN do VHC no intervalo de **100 UI/ml a 100 000 000 UI/ml**.

Alvos

Alvos

- Padrões quantitativos internos (IQS-H) e (IQS-L)
- Região mais preservada do genoma de ARN do VHC

O ensaio destina-se a detetar 6 genótipos (1-6)



Requisitos do ensaio

Sistemas GeneXpert

GeneXpert Dx Software v4.7b ou superior
Software Xpertise 6.4 ou superior

Kits de teste (CE-IVD)

GXHCV-FS-CE-10

Colheita de amostras

Safety-Lancet Super descartável, 1,5 mm (Sarstedt, Ref.: 85.1018) ou semelhante, para colher um mínimo de 100 µl de sangue capilar
- não fornecida
Minivette® POCT 100 µl K3 EDTA para colheita de sangue capilar – pode ser encomendada à Cepheid
Tubos com EDTA para colheita de sangue venoso por venipuntura - não fornecidos

Outros materiais

Equipamento de proteção individual (EPI)
Lixívia a 1:10
Etanol ou etanol desnaturado a 70%
Toalhetes desinfetantes

Opcional

Unidade de alimentação ininterrupta (UPS)/Protetor de sobretensão
Impressora

Boas Práticas de Laboratório

Equipamento de proteção individual (EPI)

- Usar batas 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(s)

- Utilizar pontas de pipeta 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 HCV Viral Load Fingerstick

Número de catálogo	GXHCV-FS-CE-10
Cartuchos por kit	10
CD do kit	Ficheiro de definição do ensaio (ADF — Assay Definition File)
	Instruções de importação do ensaio
	Folheto informativo (PDF)
Conservação	2 °C-28 °C



Kit de 10 cartuchos

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 HCV VL Fingerstick

- Conserve os cartuchos do Xpert HCV VL Fingerstick **entre 2 °C e 28 °C**
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas
- Não utilize dispositivos de colheita que não tenham sido validados pela Cepheid
- Abra a tampa do cartucho de teste apenas para adicionar a amostra, feche a tampa e prossiga com o processamento
- Inicie o teste dentro de **4 horas** após a adição da amostra ao cartucho

Advertências e precauções

- Não agite o cartucho
- Não utilize um cartucho que...:
 - pareça húmido, com fugas ou se o selo da tampa parecer 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
 - tenha ultrapassado o prazo de validade
- Não reutilize pipetas descartáveis usadas



Elimine os cartuchos e reagentes do ensaio Xpert HCV VL Fingerstick de acordo com as orientações da instituição e nacionais relativas à eliminação de materiais perigosos

Advertências e precauções

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



Colheita, conservação e transporte das amostras



Colheita da amostra – sangue capilar

- **Dispositivo de punção** recomendado (não fornecido pela Cepheid)
 - **Safety-Lancet** Super descartável, 1,5 mm
 - Sarstedt, Ref: 85.1018 ou semelhante
- **Dispositivo de colheita** obrigatório (disponível na Cepheid)
 - **Minivette® POCT** (100 µl)
- **Processo:**
 - Aqueça o dedo
 - Esterilize a área antes de colher a amostra
 - Pique o dedo com a lanceta de segurança e colha o sangue de acordo com as instruções do fabricante

Instruções detalhadas nos diapositivos seguintes



Imagem: Brochura da Sarstedt

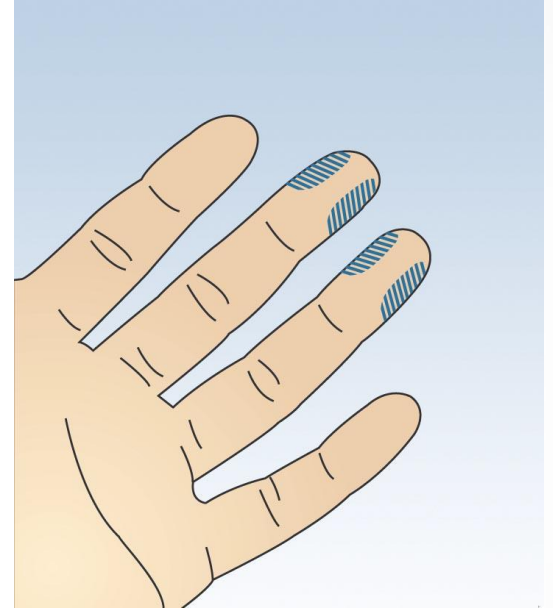
Instruções do fabricante

Aquecer o local da punção melhora o fluxo sanguíneo **até 7 vezes** o valor normal

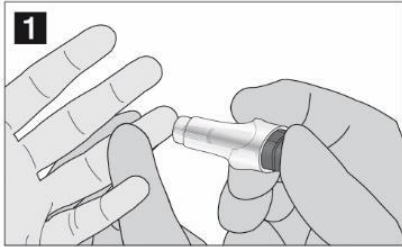
- Embrulhe a mão do paciente com um pano morno (39 °C - 40 °C)

ou

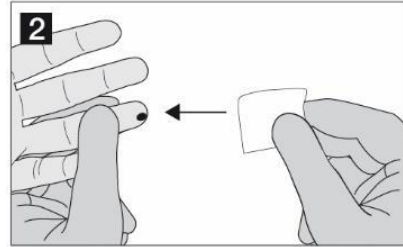
- Segure a mão do paciente sob água corrente a 39 °C - 40 °C.



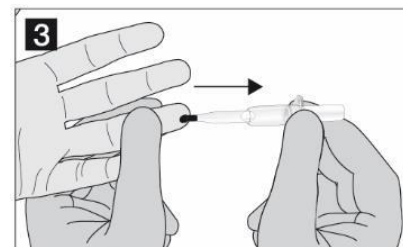
Colheita de sangue capilar



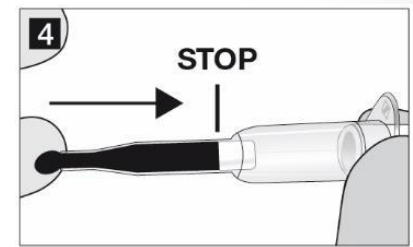
Limpe o local da punção com um desinfetante
Deixe o desinfetante secar totalmente
Pique o dedo com a lanceta de segurança



Limpe a primeira gota
Segure o local puncionado na horizontal
Evite espalhar a gota de sangue



Toque na gota de sangue com a ponta do Minivette® POCT e segure-o na horizontal



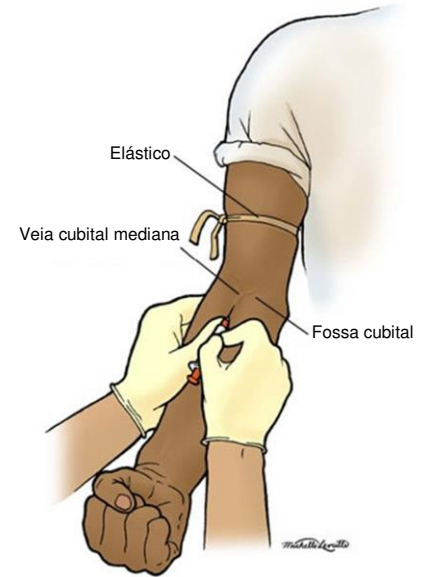
Aguarde que o sangue atinja o filtro na outra extremidade da ponta capilar

O orifício de ventilação de ar na extremidade do pistão não deve ser tapado nem empurrado.

Vídeo : <https://www.sarstedt.com/en/products/new-products/video-minivetter-poct/>

Colheita da amostra – sangue venoso


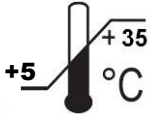

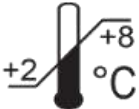

- Colha o **sangue venoso** de acordo com as instruções do fabricante do tubo com EDTA
- Inverta imediatamente o tubo 8-10 vezes para misturar e garantir a anticoagulação adequada da amostra



Medicoinfo.in

Transporte e conservação de amostras

Imagem: MarketLab.com

Amostra	Temperatura (°C)	Tempo de conservação
 Sangue capilar EDTA		Máximo 15 minutos após a colheita
 Sangue venoso EDTA		72 horas
		24 horas

Preparação do cartucho



Preparação do cartucho – sangue capilar do Minivette

NOTA:

- Colha 100 µl da amostra de sangue total utilizando o Minivette
- Deixe o cartucho atingir a temperatura ambiente antes de iniciar o teste



1. Identifique o lado do cartucho com a ID da amostra.



2. Abra a tampa do cartucho.



3. Coloque o Minivette completamente na câmara da amostra do cartucho e pressione lentamente o pistão para distribuir a totalidade da amostra sanguínea.



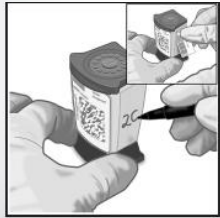
4. Feche a tampa do cartucho.

5. Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.

Preparação do cartucho – sangue venoso em tubo com EDTA

NOTA:

- Colha o sangue por venipuntura (EDTA) de acordo com as instruções do fabricante
- Deixe o cartucho atingir a temperatura ambiente antes de iniciar o teste



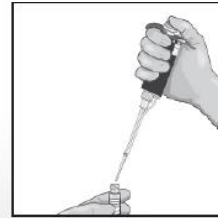
1. Identifique o lado do cartucho com a ID da amostra.



2. Abra a tampa do cartucho.



3. Misture o sangue venoso contido no tubo de colheita com EDTA invertendo o tubo, pelo menos, 7 vezes.



4. Pipete 100 µl de sangue venoso do tubo de colheita com uma micropipeta automática. Pode utilizar o pré-humedecimento para evitar erros de pipetagem.



5. Coloque a pipeta na câmara de amostras e transfira lentamente 100 µl de sangue venoso do tubo de colheita para a câmara de amostras do cartucho.



6. Feche a tampa do cartucho.

7. Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.

Executar um teste

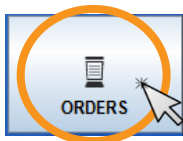
1 Criar um teste

GeneXpert



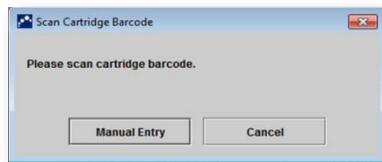
Inicie o teste dentro de **4 horas** após a adição da amostra ao cartucho

GeneXpert
Infinity



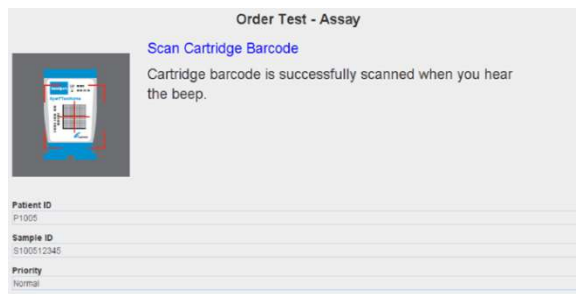
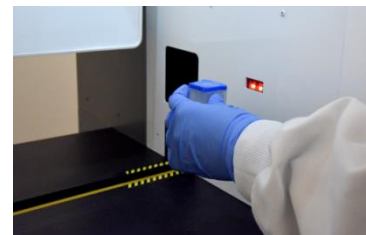
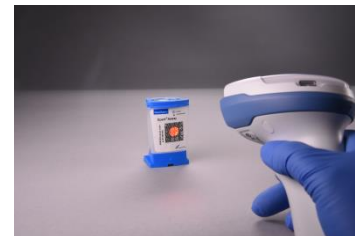
Coloque o cartucho na correia transportadora após a adição da amostra ao cartucho

2 Ler as mensagens de código de barras: ID do cartucho/paciente e/ou amostra



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

3 Ler o cartucho



Para detalhes completos sobre como executar um teste, consultar o folheto informativo e os manuais do utilizador do GeneXpert Dx ou do Xpertise Dx.

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

NÃO O ALTERE!!!

7 Clique em Iniciar teste (Start Test)

8 Uma luz verde vai piscar no módulo
Coloque o cartucho no módulo e feche a porta

Create Test

Patient ID
Sample ID
Patient ID 2
Last Name

Name
Select Assay Xpert HCV VL Fingerstick
Select Module A3
Reagent Lot ID* 16119 Expiration Date* 2016/1/17
Test Type Specimen
Sample Type Other Other S
Notes

Start Test Scan Cartridge Barcode

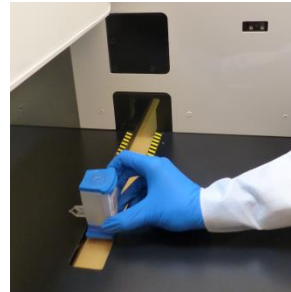


Criar um teste no software Xpertise Dx

- 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* Xpert HCV VL Fingerstick	
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



- **Controlo do sistema — verificação do estado**

- 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.

- **Controlos de qualidade do ensaio**

- 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
 - Adequação do volume da amostra (SVA — Sample Volume Adequacy)
 - Controlos de verificação da sonda (PCC — Probe Check Controls)
 - Padrões quantitativos internos (IQS — Internal Quantitative Standards) alto (H — High) e baixo (L — Low) para quantificar o vírus no ARN do VHC

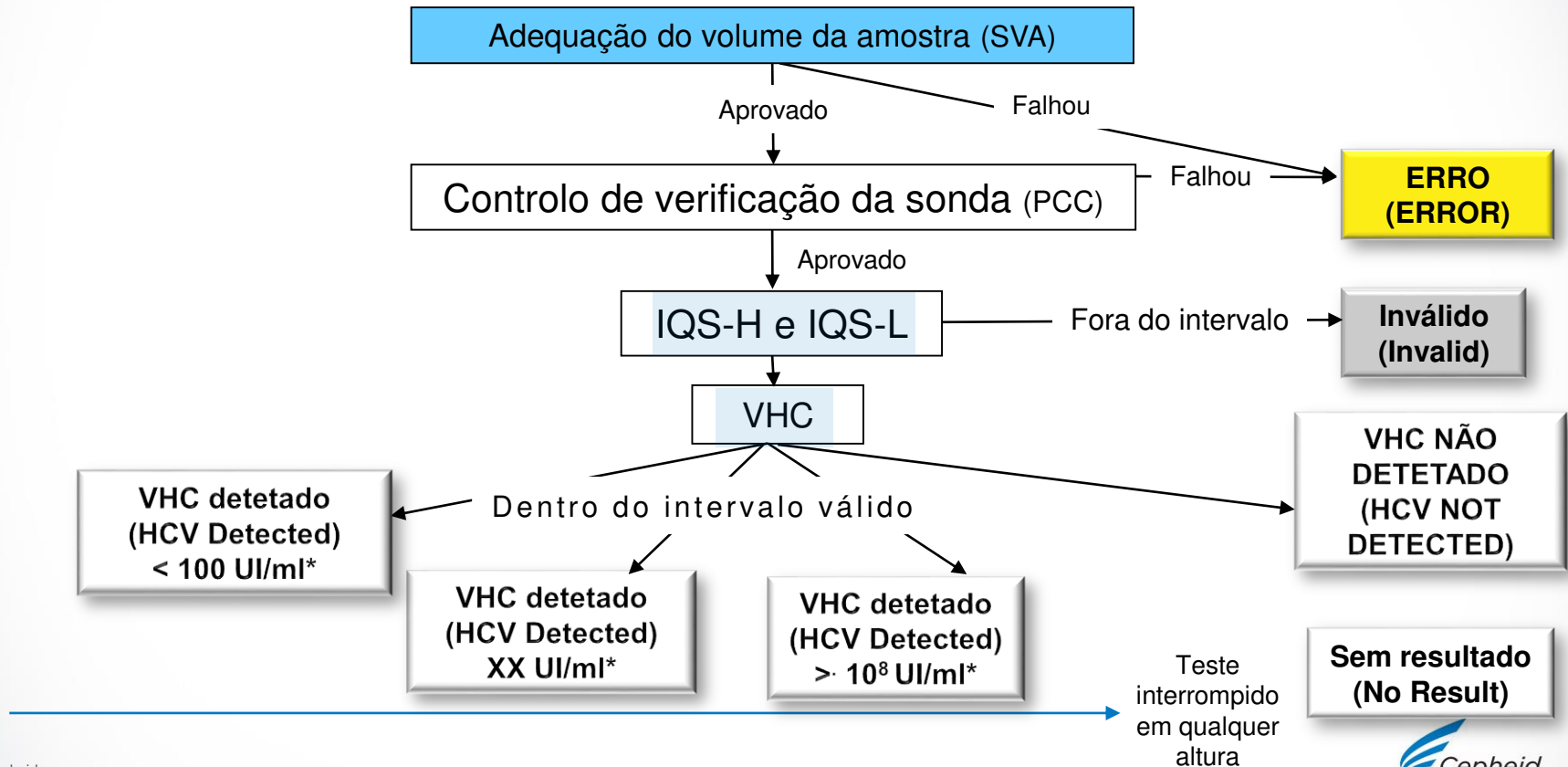
Controlos de qualidade internos em pormenor

- **Adequação do volume da amostra (SVA — Sample Volume Adequacy)**
Verifica que foi adicionado o volume correto de amostra ao cartucho
- **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 para monitorizar
 - a reidratação das esferas
 - a integridade da sonda
 - o enchimento do tubo de reação
 - a estabilidade do corante
- **Padrões quantitativos internos (IQS — Internal Quantitative Standards)**
 - 2 controlos armored RNA® não infecciosos, não específicos do VHC sob a forma de uma esfera liofilizada
 - São designados IQS baixo (10^3 cópias/ml) e IQS alto (10^6 cópias/ml)
 - O IQS-H e IQS-L são calibrados em conformidade com a 4.ª Norma Internacional da OMS para VHC NAT
 - Verificam se a amostra foi corretamente processada
 - Verificam a lise, a presença do organismo e deteta a inibição
 - Os valores de Ct e de fluorescência do IQS baixo e IQS alto têm de se situar sempre dentro o intervalo válido

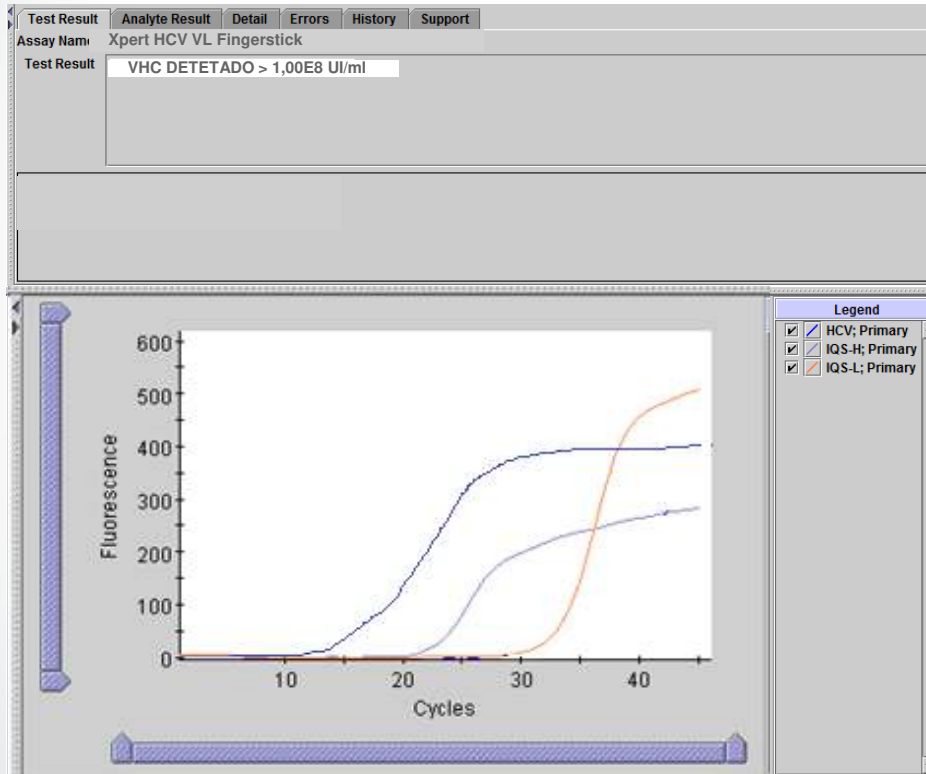
Interpretação dos resultados



Algoritmo de interpretação dos resultados



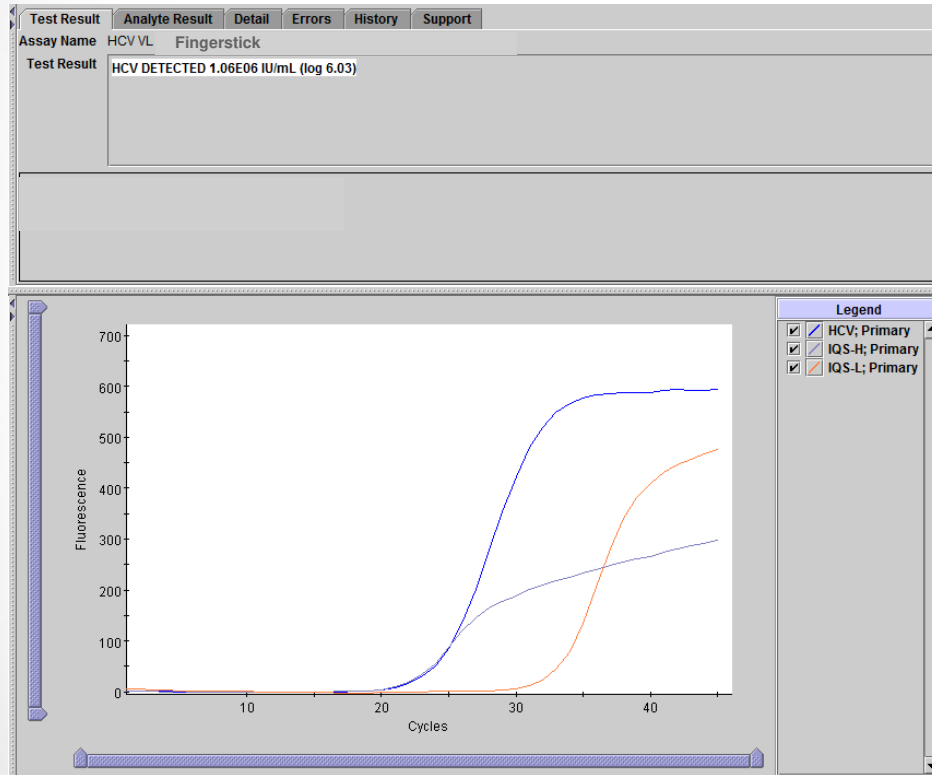
VHC DETETADO > 1,00E08 UI/ml



O alvo do VHC VL é detetado **acima** do intervalo de medição analítico

- IQS-H: APROVADO
 - O IQS-H tem um Ct dentro do intervalo válido
- IQS-L: APROVADO
 - O IQS-L tem um Ct dentro do intervalo válido
- Verificação da sonda: APROVADO

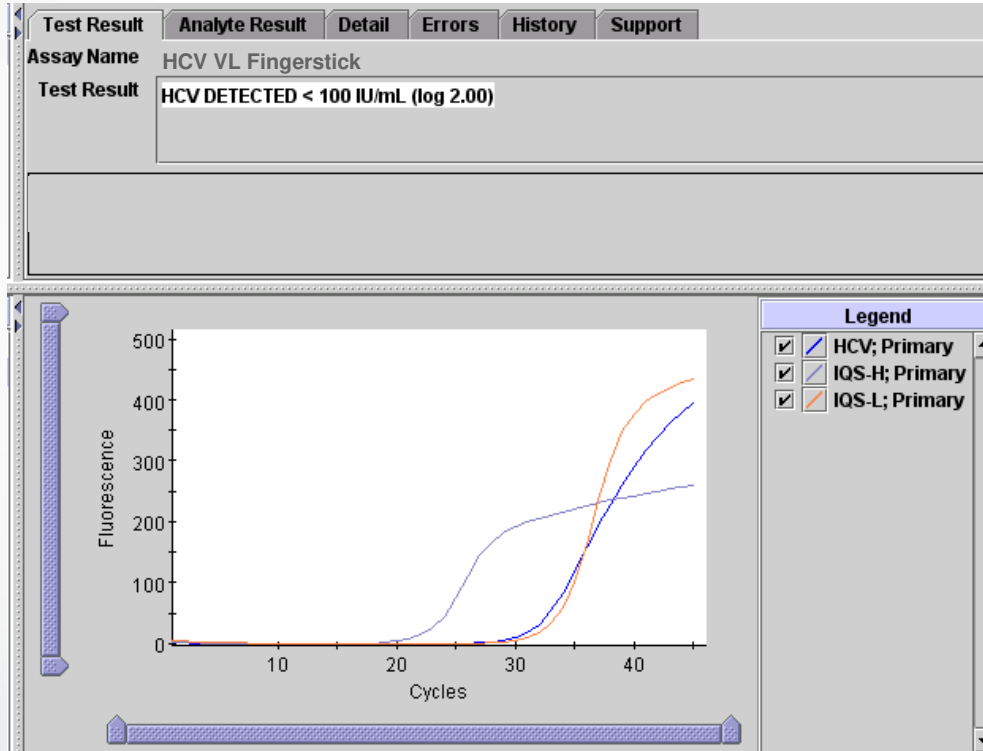
VHC DETETADO $1,06 \times 10^6$ UI/ml



O ARN do VHC tem um valor quantitativo **dentro** do intervalo de medição analítica

- IQS-H e IQS-L – APROVADO
- Verificação da sonda - APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados

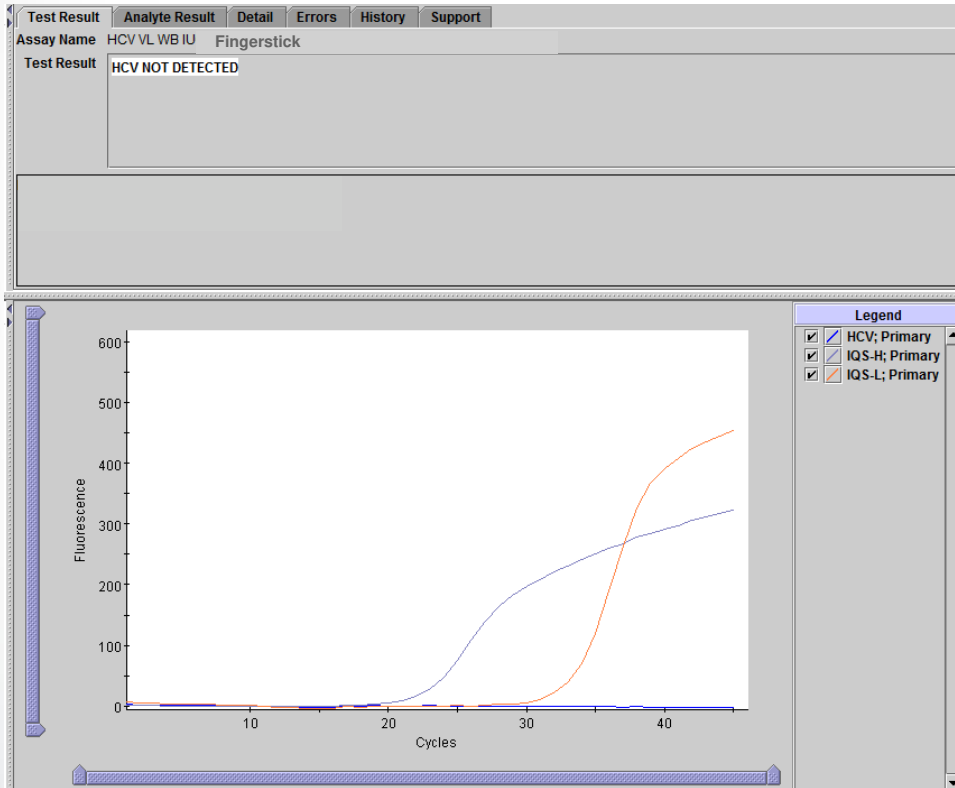
HCV DETETADO < 100 UI/ml



O alvo do HCV VL é detetado **abaixo** do intervalo de medição analítico

- IQS-H: APROVADO
 - O IQS-H tem um Ct dentro do intervalo válido
- IQS-L: APROVADO
 - O IQS-L tem um Ct dentro do intervalo válido
- Verificação da sonda: APROVADO

VHC NÃO DETETADO (HCV NOT DETECTED)



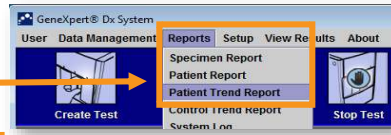
O ARN do VHC **não é detetado**

- IQS-H e IQS-L – APROVADO
- Verificação da sonda - APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados

Relatório de tendências do paciente

- Pode monitorizar um paciente específico durante um período de tempo, mediante criação de um relatório de tendências

1 Seleccione Relatórios (Reports) e Relatório de tendências do paciente (Patient Trend Report)



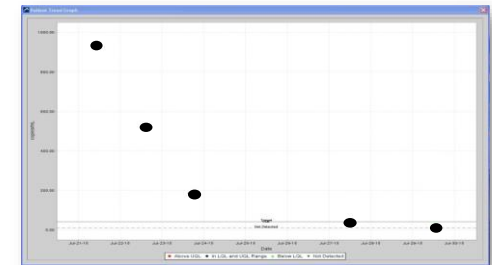
2 Escolha

- Intervalo de tempo
- ID de paciente
- Ensaio
- Preferências do alvo

A screenshot of the 'Patient Trend Report' configuration window. It includes fields for 'Date' (radio button for 'All' and a date range selector), 'Patient ID', 'Assay' (set to 'Xpert HCV VL Fingerstick'), and 'Version' (set to '1'). There are checkboxes for 'Specify y-axis maximum value' and 'Plot quantitative value in log format'. A 'View Graph' button is present. At the bottom, there are buttons for 'Generate Report File', 'Preview PDF' (highlighted with an orange box), and 'Close'.

4 Pré-visualize o relatório

5 Ver o seu relatório



Resolução de problemas



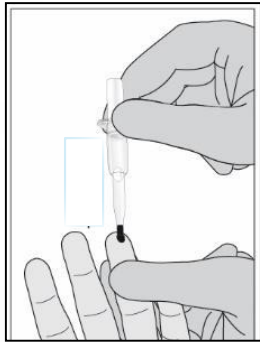
Fatores que afetam negativamente os resultados

- Colheita incorreta da amostra
 - Não foi avaliado o desempenho com outros dispositivos de colheita e tipos de amostra
- Transporte ou conservação incorretos da amostra colhida
 - Consultar o folheto informativo para obter as instruções de manuseamento correto
- Procedimento de análise incorreto
 - Modificação de procedimentos de análise, erros técnicos ou troca de amostras podem afetar os resultados do teste
 - Para se evitarem resultados erróneos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções do folheto informativo
- Substância interferente
 - Podem observar-se resultados falsos negativos ou resultados inválidos na presença de substâncias interferentes

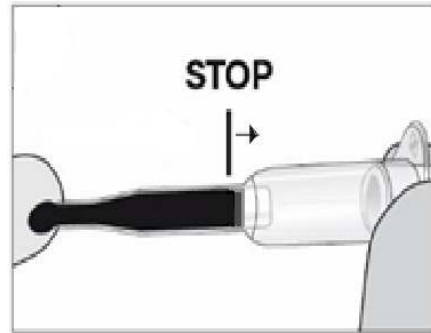
Colheita incorreta da amostra



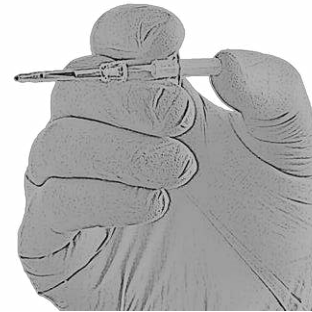
Não colocar o Minivette na vertical



Não aspirar par o filtro



Não bloquear o pistão durante a colheita



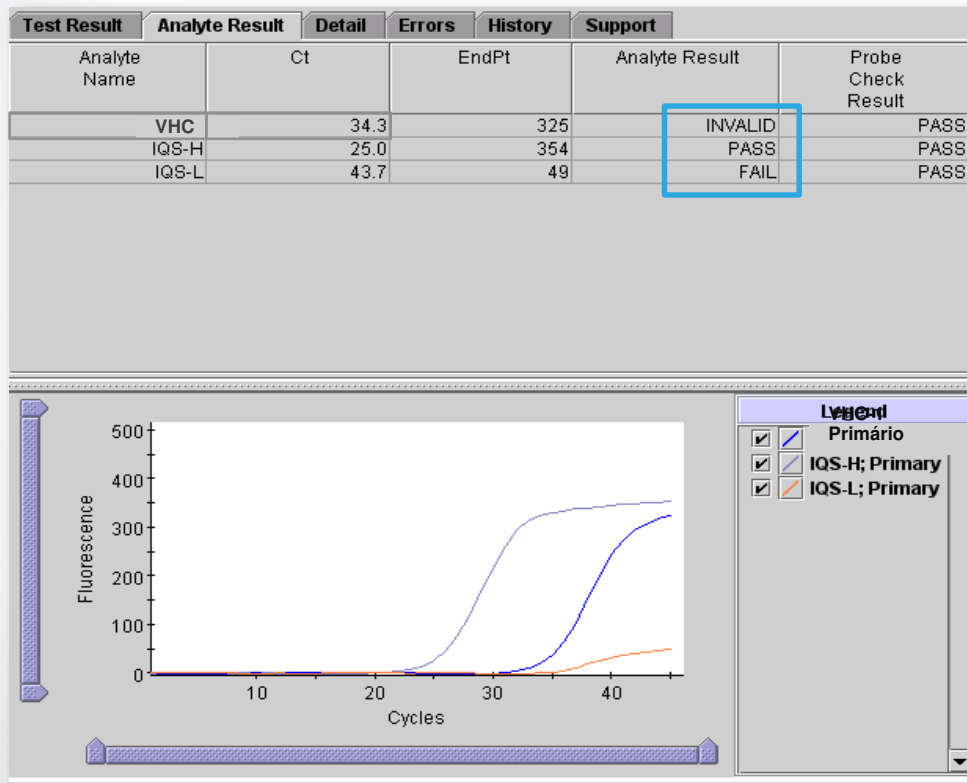
Não conservar o Minivette > 15 min.



Não tocar no dedo
(tocar apenas a gota de sangue)

Resultado INVÁLIDO (INVALID)

INVALID



Não é possível determinar a presença ou a ausência do alvo do VHC

- IQS-H e/ou IQS-L: FALHOU

Os limiares de ciclo do controlo quantitativo interno não estão dentro do intervalo válido

- Verificação da sonda: APROVADO

- Causa

- Colheita incorreta da amostra (por exemplo, utilização de um tubo com heparina)
- Preparação incorreta da amostra
- Conservação incorreta dos cartuchos
- Processamento ineficiente da amostra no cartucho
- A ausência de esferas de iniciador/sonda ou enzima
- Presença de inibidores na amostra

- Solução

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

SEM RESULTADO (NO RESULT)

NO RESULT

The screenshot displays the software interface for the Xpert HCV VL Fingerstick assay. At the top, there is a navigation bar with tabs: Test Result (selected), Analyte Result, Detail, Melt Peaks, Errors, History, Messages, and Support. Below the navigation bar, the 'Assay Name' is 'Xpert HCV VL Fingerstick'. The 'Test Result' field is highlighted with a blue box and contains the text 'NO RESULT'. Below this, there is a section labeled 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' and at the bottom, the text '<No Data Available>' is displayed.

- Não foi possível determinar a presença ou ausência de VHC.
- SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados colhidos foram insuficientes.
- IQS-H ou IQS-L: SEM RESULTADO
- Verificação da sonda: NA (não aplicável)
- **Causa**
 - 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

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

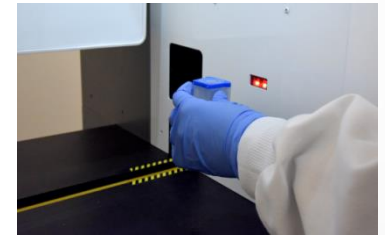
Rotule apropriadamente como repetição do teste no cartucho novo

Processe a amostra de acordo com o folheto informativo

4



Execute o teste no sistema GeneXpert



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 do software e, caso se aplique, número da 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 (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

