

Formação sobre o ensaio: Xpert® GBS

Apenas para produtos US-IVD e CE-IVD



Agenda da formação

- Formação sobre o Xpert GBS
 - Reagentes
 - Colheita de amostras
 - Conservação e manuseamento do kit
 - Preparação do cartucho
 - Controlo de qualidade
 - Análise dos resultados
- Discussão



Objetivos da formação

No final da formação, os utilizadores serão capazes de:

- Conservar e manusear o kit do cartucho Xpert GBS.
- Cumprir as devidas precauções de segurança no laboratório.
- Colher a amostra adequada e transportá-la.
- Realizar a preparação do cartucho e executar o ensaio.
- Comunicar os vários resultados gerados pelo software.
- Compreender a estratégia de controlo do ensaio.

Xpert[®] GBS



A solução Cepheid



- Detecção de ADN de Streptococcus do Grupo B (GBS)
- Controlos internos integrados para cada amostra
 - Controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control)
 - Controlo de processamento da amostra (SPC — Sample Processing Control)
 - Controlo interno (IC)
- O sistema de cartucho fechado minimiza o risco de contaminação
- Teste a pedido
 - Conclusão antecipada do ensaio
 - Resultados positivos rápidos, em pouco mais de 30 minutos
- Acesso aleatório

Utilização prevista

O Xpert GBS da Cepheid realizado no sistema GeneXpert® Dx é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo concebido para **detetar o ADN de Streptococcus do Grupo B (GBS) em amostras de esfregaços vaginais/retais**, utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, totalmente automatizada com deteção fluorogénica do ADN amplificado. **O ensaio Xpert GBS está indicado para a rápida identificação da colonização por GBS antes do parto e durante o parto.**

A utilização do Xpert GBS para o rastreio durante o parto não deve excluir a utilização de outras estratégias (p. ex., testes antes do parto). Os resultados do Xpert GBS durante o parto são úteis para identificar candidatas à profilaxia com antibióticos durante o parto nas situações em que a administração de antibióticos intravenosos não é adiada devido à espera dos resultados. O ensaio Xpert GBS não fornece resultados de suscetibilidade. São necessários isolados de cultura para realizar testes de suscetibilidade, conforme recomendado para mulheres alérgicas à penicilina.

Requisitos do sistema e de reagentes

Sistemas GeneXpert

- Módulos de 6 cores

Kits de teste

- GXGBS-100N-10

Colheita da amostra

- Dispositivo de colheita Cepheid (900-0370)

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Pipeta de transferência estéril, descartável (apenas para repetição do teste)
- Equipamento de proteção individual (EPI)
- Lixívia diluída a 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 batas limpas e luvas
- 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 ponteiras com filtro, quando recomendado
- Seguir os requisitos do fabricante relativamente à calibração e manutenção do(s) equipamento(s)

Manuseamento do kit



Componentes do kit Xpert GBS

Número de catálogo	GXGBS-100N-10
Testes por kit	10
Conteúdo do cartucho	Esferas de reagente
	Reagentes líquidos
CD do kit	Ficheiros de definição do ensaio (Assay Definition Files, ADF)
	Instruções de importação do ensaio
	Folheto informativo
Conservação	2 °C-28 °C



Conservação e manuseamento do kit Xpert GBS

- Conserve os cartuchos e reagentes do Xpert GBS 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 apenas para adicionar a amostra, feche a tampa e prossiga com o processamento

Advertências e precauções

- Não agite o cartucho
- Não utilize um cartucho...:
 - se parecer húmido, com fuga ou se o selo da tampa parecer estar partido;
 - se parecer danificado;
 - se tiver caído depois de o ter retirado da embalagem;
 - se tiver caído ou sido agitado depois de ter adicionado a amostra;
 - se tiver um tubo de reação danificado;
 - se tiver sido utilizado; cada cartucho é de utilização única para processamento de um teste;
 - tenha ultrapassado o prazo de validade
- Não reutilize as zaragatoas



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

Eliminação de resíduos

- As amostras biológicas, os dispositivos de transferência e os cartuchos usados devem ser considerados como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos, exigindo precauções padrão.
- Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua 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 de amostras Cepheid GBS e respectiva estabilidade

Amostra	Temperatura de transporte e conservação (°C)	Tempo de conservação
Zaragatoa vaginal/retal	2 °C-8 °C	6 dias
	15 °C-30 °C	24 horas



Referência Cepheid 900-0370

↑
MARCA DE
ENTALHE

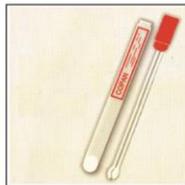
Colheita de amostras

Protocolo de colheita de amostras vaginais/retais Xpert® GBS

Importante: proceda à colheita da amostra vaginal/retal antes de utilizar um espéculo ou um lubrificante.

1

É necessário utilizar uma zaragatoa dupla Copan Venturi Transystem (dispositivo de colheita da Cepheid n.º 900-0370) para colher a amostra.



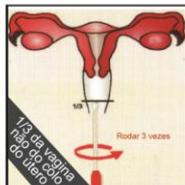
2

Utilize gaze para limpar a secreção ou corrimento excessivos da zona vaginal/retal.



3

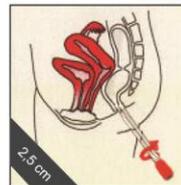
Insira cuidadosamente a zaragatoa dupla no terço inferior da vagina da doente e colha amostras de secreção da mucosa. Rode a zaragatoa 3 vezes para garantir a uniformidade da amostra em ambas as zaragatoas. Não colha amostras do colo do útero.



4

Utilizando a mesma zaragatoa dupla, insira cuidadosamente a zaragatoa aproximadamente 2,5 cm para além do esfíncter anal e rode suavemente para obter amostras das criptas anais.

Nota: ao longo de todo o procedimento, as zaragatoas têm de permanecer ligadas à tampa vermelha.



5

Retire e elimine a tampa do tubo para transporte e coloque as zaragatoas dentro do tubo, empurrando completamente a tampa vermelha para baixo.



6

As amostras que podem ser testadas num período de 24 horas podem ser conservadas à temperatura ambiente. De contrário, as amostras conservadas a 2 °C-8 °C mantêm-se estáveis por um período máximo de 6 dias.



Preparação do cartucho Xpert GBS

Preparação do cartucho Xpert GBS

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

Para obter uma cópia da FDS, visite www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

Assistência Técnica da Cepheid

Filial nos EUA

+1 (888) 838-3222

techsupport@cepheid.com

Delegação na Europa

+33 563 82 53 19

support@cepheideurope.com



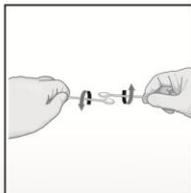
1 Obtenha um cartucho.



2 Abra a tampa do cartucho.



3 Remova as zaragatoas do recipiente. Esfregue suavemente as zaragatoas uma na outra para distribuir a amostra em cada uma. Volte a colocar uma zaragatoa no tubo para transporte.



Nota: Não segure na zaragatoa por baixo do entalhe.

4 Insira a outra zaragatoa na câmara de amostra do cartucho. Quebre a zaragatoa pelo entalhe.



Nota: Utilize gaze ou equivalente para minimizar o risco de contaminação.

5 Certifique-se de que a zaragatoa consegue flutuar livremente na câmara.



Colocação incorreta da zaragatoa. A extremidade da zaragatoa fica presa na ranhura da abertura da câmara de amostra.



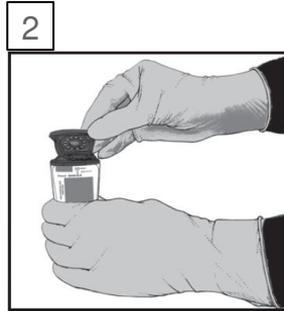
6 Feche a tampa do cartucho. Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.



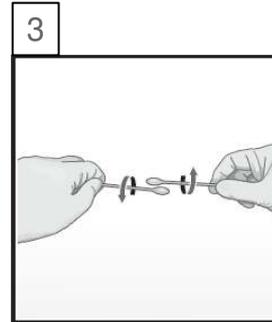
Preparação do cartucho Xpert GBS



Obtenha um cartucho.



Abra a tampa do cartucho.



Remova as zaragatoas do recipiente. Esfregue suavemente as zaragatoas uma na outra. Coloque novamente uma zaragatoa no tubo para colheita/transporte.

Nota: Não segure na zaragatoa por baixo do entalhe.



Insira a outra zaragatoa no cartucho. Quebre a zaragatoa pelo entalhe.

Nota: Utilize gaze ou equivalente para minimizar o risco de contaminação.



Certifique-se de que a zaragatoa flutua livremente na câmara.



Colocação incorreta da zaragatoa. A extremidade da zaragatoa fica presa na ranhura da abertura da amostra.



Feche a tampa do cartucho. Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.

Executar um teste

1 Criar teste (Create Test)

GeneXpert



Inicie o teste dentro de **15 minutos** após a adição da amostra ao cartucho

GeneXpert
Infinity



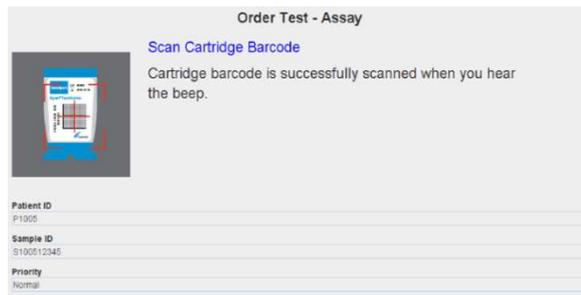
Coloque o cartucho na correia transportadora dentro de **15 minutos** após a adição da amostra.

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

2 Ler código 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



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

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: Nome do ensaio Xpert
- Select Module: A3
- Reagent Lot ID*: 16119
- Expiration Date*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]

The 'Start Test' button is highlighted with an orange box and a mouse cursor. The 'Scan Cartridge Barco' button is also visible.



Criar um teste no software Xpertise

4 Preencha os campos, conforme necessário

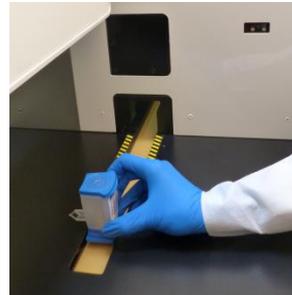
5 O protocolo do ensaio é selecionado automaticamente

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* Ensaio 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	



Protocolo Xpert automatizado



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 de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control)
 - Controlo de processamento da amostra (SPC — Sample Processing Control)
 - Controlo interno (IC — Internal 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
 - o enchimento do tubo de reação
 - a integridade da sonda
 - a estabilidade do corante

- **Controlos de processamento da amostra (SPC — Sample Processing Controls) e Controlo interno (IC — Internal Control)**

- Verificam o processamento adequado da amostra
- Verificam a lise, a presença do organismo e detetam a inibição do PCR
- Deve ser positivo numa amostra negativa
- Pode ser negativo ou positivo numa amostra positiva

Controlos externos disponíveis no mercado

Empresa	Descrição	Número de catálogo
Microbiologics	Controlo positivo de nível baixo da espécie <i>Streptococcus</i> (Grupo B)	8164
	Controlo positivo de nível moderado da espécie <i>Streptococcus</i> (Grupo B)	
	Controlo positivo de nível alto da espécie <i>Streptococcus</i> (Grupo B)	
	<i>L. acidophilus</i> como controlo negativo	
www.microbiologics.com		

Devem utilizar-se controlos externos de acordo com as organizações de acreditação locais, estaduais e federais, conforme aplicável.

Análise dos resultados

*Consulte os detalhes
completos no folheto
informativo*



Sumário dos resultados

Resultado apresentado	GBS	SPC	IC
Positivo (Positive)	+	+/-	+/-
Negativo (Negative)	-	+	+
INVÁLIDO (INVALID)	-	-	+
	-	+	-
	-	-	-

EAT (Early Assay Termination, terminação precoce do ensaio)

- **O que é?**
 - Monitorização em tempo real do progresso da reação
 - Terminação da reação quando o limite de ciclo de uma dada reação é ultrapassado
- **Quais são os benefícios?**
 - Os resultados positivos são reportados mais cedo (dependendo da titulação da amostra)
 - Quando é urgente intervir, poupam-se minutos valiosos para os doentes que mais precisam

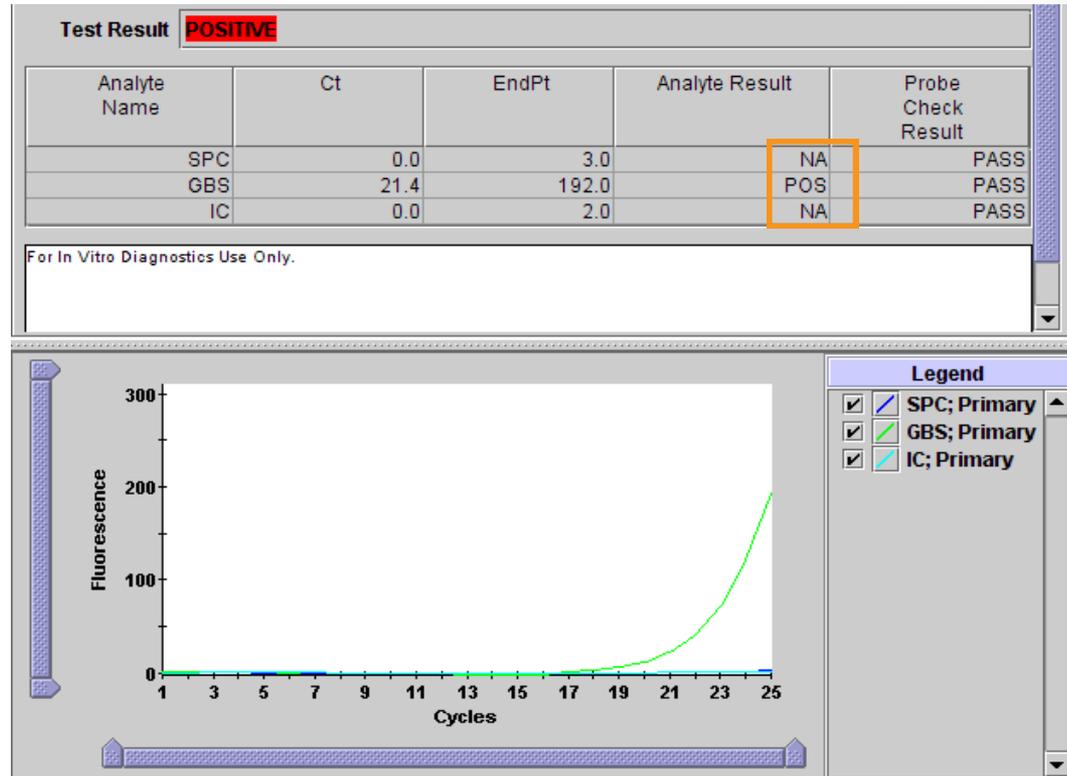
GBS positivo

— exemplo de conclusão antecipada do ensaio

Test Result **POSITIVE**

É detetado o ácido nucleico alvo do GBS.

- SPC e IC: NA (não aplicável) (NA [not applicable])
O SPC e o IC são ignorados porque a amplificação do GBS pode competir com estes controlos.
- Verificação da sonda: APROVADO (Probe Check: PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

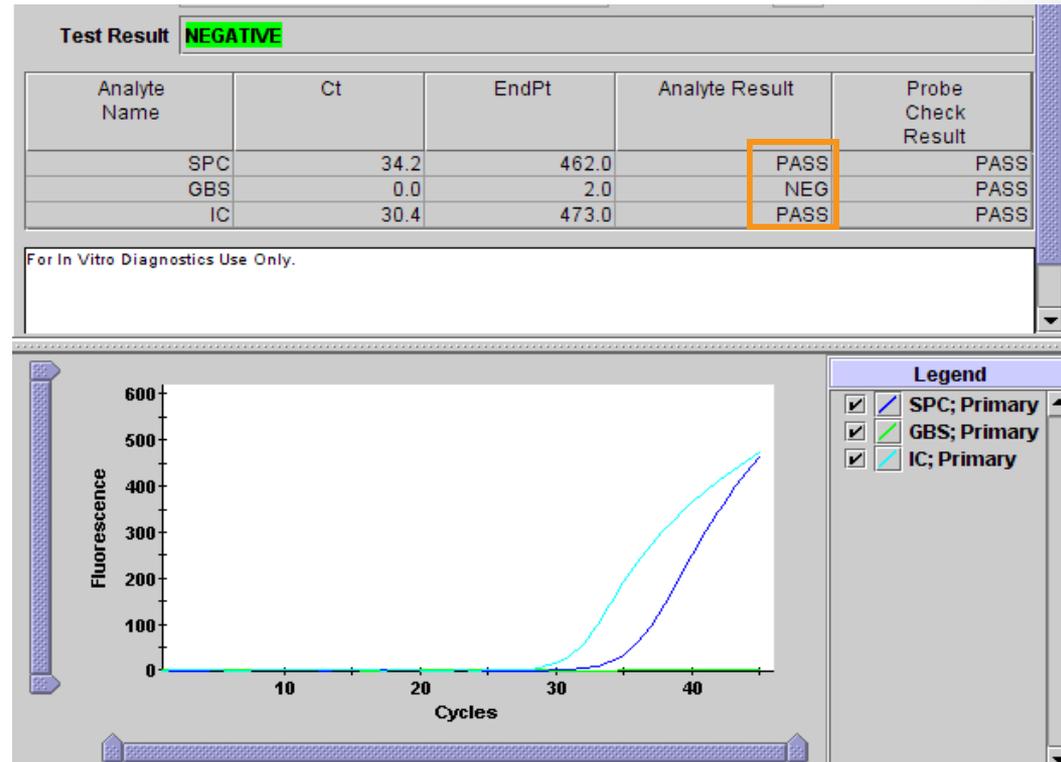


GBS negativo

Test Result **NEGATIVE**

O ácido nucleico alvo do GBS não foi detetado.

- GBS: NEGAT. (NEG)
- SPC e IC: APROVADO (PASS)
O SPC e o IC têm Ct válidos.
- Verificação da sonda:
APROVADO (Probe Check: PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.



Resolução de problemas



Fatores que afetam negativamente os resultados

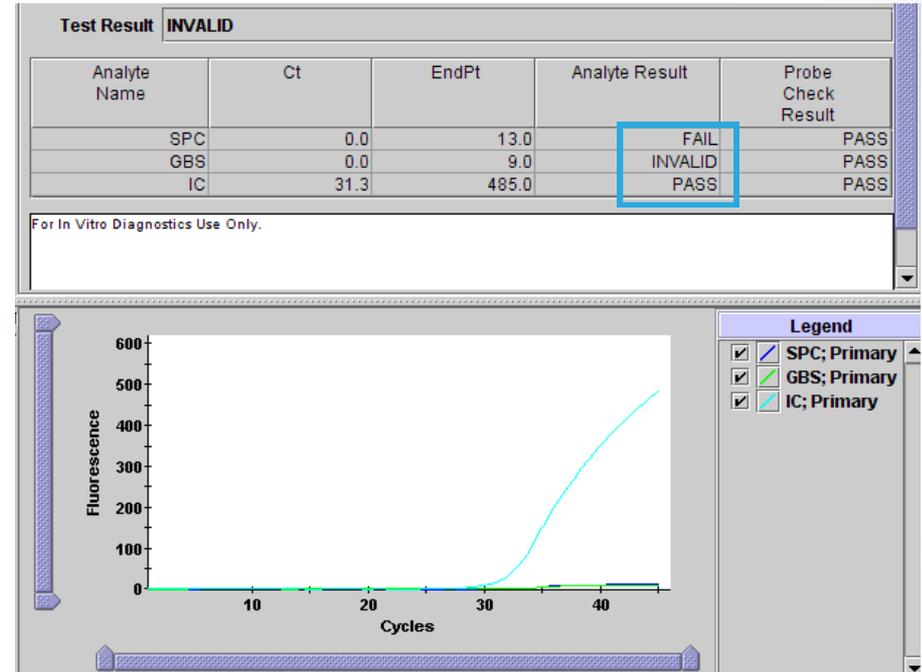
- **Colheita incorreta da amostra**
 - Não foi avaliado o desempenho com outros dispositivos de colheita e tipos de amostra.
- **Transporte ou conservação incorretos da amostra colhida**
 - As condições de transporte e conservação são específicas para cada amostra.
 - Consultar o folheto informativo para obter as instruções de manuseamento corretas.
- **Procedimento de análise incorreto**
 - A modificação dos procedimentos de análise pode alterar o desempenho do teste.
 - Erros técnicos ou a troca de amostras podem afetar os resultados do teste.
 - Para se evitarem resultados incorretos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções do folheto informativo.
- **Substância interferente**
 - Podem observar-se resultados falso negativos ou resultados inválidos no ensaio na presença de substâncias que interferem.
- **O número de microrganismos na amostra é inferior ao limite de detecção do teste**
- **Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador (primer) ou da sonda poderão afetar a detecção de variantes de GBS novas ou desconhecidas, originando um resultado falso negativo.**

INVÁLIDO (INVALID)

Test Result **INVALID**

A presença ou ausência do ácido nucleico alvo do GBS não pode ser determinada. O IC e/ou o SPC não cumprem os critérios de aceitação ou formaram-se bolhas no tubo de reação.

- GBS: INVÁLIDO (INVALID)
- SPC e/ou IC: FALHOU (FAIL)
Os resultados do SPC e/ou do alvo são negativos e o SPC e/ou IC não têm um Ct válido.
- Verificação da sonda: APROVADO (Probe Check: PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.



ERRO (ERROR)

Test Result **ERROR**

A presença ou ausência do ácido nucleico alvo do GBS não pode ser determinada. Um componente do sistema falhou, a pressão excedeu o limite máximo ou a verificação da sonda falhou.

- GBS: SEM RESULTADO (NO RESULT)
- SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT)
- IC: SEM RESULTADO (NO RESULT)
- Verificação da sonda: FALHOU (Probe Check: FAIL)*

* Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.

Test Result **ERROR**

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
SPC	0.0	0.0	NO RESULT	NA
GBS	0.0	0.0	NO RESULT	NA
IC	0.0	0.0	NO RESULT	NA

For In Vitro Diagnostics Use Only.

Test and Analyte Result | Detail | Errors | History

Troubleshoot

#	Description	Detail	Time
1	Operation terminated	Error 2008 - Syringe pressure reading of 120.0 PSI exceeds the protocol limit of 120.0 PSI	6/27/2009 13:09:49

SEM RESULTADO (NO RESULT)

Test Result **NO RESULT**

A presença ou ausência do ácido nucleico alvo do GBS não pode ser determinada.

- GBS LB: SEM RESULTADO (NO RESULT)
- SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT)
- IC: SEM RESULTADO (NO RESULT)
- Verificação da sonda: NA (não aplicável) (Probe Check: NA [not applicable])

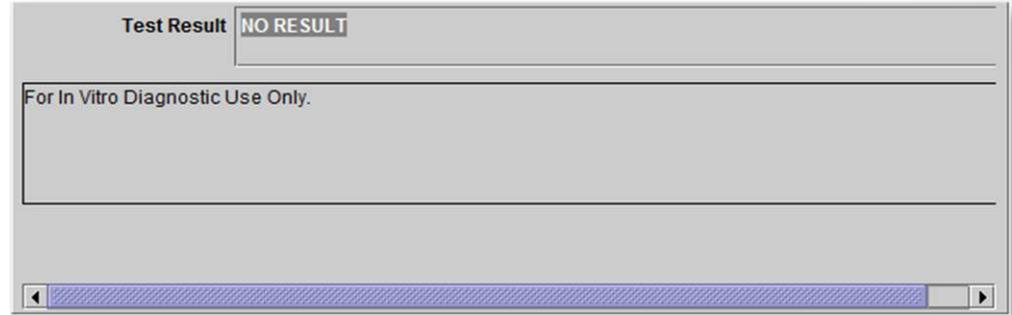
Causas possíveis

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
- Repetir o teste com um cartucho novo



Procedimento de repetição de teste Xpert GBS

Procedimento de repetição de teste Xpert

• Xpert GBS

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

Para obter uma cópia da FDS, visite www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

Assistência Técnica da Cepheid

Filial nos EUA
+1 (888) 838-3222, opção 2
techsupport@cepheid.com

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



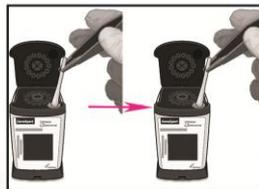
1 Guarde o cartucho usado. Obtenha um novo cartucho Xpert.



2a Se existir líquido na câmara de amostra do cartucho, utilize uma pipeta de transferência estéril para transferir todo o líquido para a câmara de amostra de um novo cartucho.



2b Se não houver líquido, utilize uma pinça estéril para transferir a zaragatoa para um novo cartucho.



2c Ou prepare um novo cartucho, utilizando a segunda zaragatoa, conforme se mostra no lado inverso.



3 Feche a tampa do cartucho. Inicie o teste dentro do prazo especificado.



Limitações

- Consulte no folheto informativo uma lista completa das limitações.

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 etiqueta de serviço (Service Tag) 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 107 884 (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
Japão	+ 0120 95 4886	support@japan.cepheid.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