

Xpert[®] Bladder Cancer Monitor

REF GXBLAD-CM-CE-10

Instruções de utilização

IVD CE

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Trademark, Patents, and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2016-2023 Cepheid.

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2016–2023 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações no Histórico de revisões.

Xpert Bladder Cancer Monitor

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome proprietário

Xpert® Bladder Cancer Monitor

2 Nome comum ou usual

Xpert Bladder Cancer Monitor

3 Utilização prevista

O Xpert Bladder Cancer Monitor, realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert® da Cepheid, é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo destinado a monitorizar a recidiva de cancro da bexiga em pacientes adultos com diagnóstico prévio de cancro da bexiga. O teste utiliza uma amostra de urina mictada e mede o nível de cinco mARN-alvo (ABL1, CRH, IGF2, UPK1B e ANXA10) através de transcrição reversa/reacção em cadeia da polimerase (RT-PCR) em tempo real. O Xpert Bladder Cancer Monitor é indicado como adjuvante à avaliação clínica padrão para monitorizar a recidiva de cancro da bexiga em pacientes adultos com diagnóstico prévio deste tipo de cancro e deve ser utilizado juntamente com outras medidas clínicas para avaliar a recidiva de doença.

4 Resumo e explicação

O cancro da bexiga urotelial (Urothelial Bladder Cancer, UBC) é o 7.º cancro com maior prevalência em homens e o 17.º cancro com maior prevalência em mulheres a nível mundial.¹ O UBC apresenta maior prevalência em países desenvolvidos, sendo o 4.º e 9.º cancro com maior prevalência em homens e mulheres, respetivamente, no mundo Ocidental. Setenta e cinco por cento dos UBC recém-diagnosticados são cancros que não invadem o tecido muscular, enquanto os 25% de diagnósticos restantes são cancros que invadem o tecido muscular, exigindo intervenções radicais.¹ A frequência de UBC combinada com a taxa de recidivas mais elevada de todos os cancros acrescenta uma enorme carga de custos aos sistemas de saúde. A incidência de UBC diminuiu em países específicos, o que se pensa estar associado à diminuição do consumo de tabaco e à melhoria da higiene industrial em profissões de alto risco. Contudo, pensa-se que a carga global está a aumentar em países em desenvolvimento, especialmente na China, onde fumar é comum e a população é elevada. A taxa de prevalência de UBC é a mais elevada de todos os cancros urológicos.¹ Nos Estados Unidos, a incidência de cancro da bexiga continua a aumentar na população em envelhecimento, correspondendo a estimativa mais recente a mais de 74 000 casos em 2015. Além disso, há mais de 500 000 pacientes que vivem com cancro da bexiga nos Estados Unidos.² Na União Europeia (UE), a taxa de incidência padrão por idade é de 27 em 100 000 para os homens e seis em 100 000 para as mulheres. A incidência, a prevalência e a mortalidade variam entre regiões e países.¹ O cancro da bexiga afeta sobretudo pessoas com mais de 60 anos de idade nos Estados Unidos da América e na Europa.² As taxas de incidência são quase quatro vezes mais elevadas nos homens em relação às mulheres, sendo mais elevadas na etnia caucasiana.²

O cancro da bexiga manifesta-se mais frequentemente através de hematúria microscópica ou macroscópica indolor, sendo evidente em aproximadamente 80% a 90% dos pacientes com diagnóstico de cancro da bexiga. As pessoas com doença avançada na observação inicial apresentarão mais provavelmente sintomas, como dor lombar ou pélvica, para além da hematúria. A maioria dos pacientes apresenta um estado clínico pouco notável e são necessários testes mais invasivos para o diagnóstico.

O cancro da bexiga tem a taxa de recidivas mais elevada de qualquer malignidade, atingindo frequentemente os 70% nos cinco anos posteriores ao tratamento bem-sucedido. Embora a maioria dos pacientes com cancro da bexiga possa ser tratada com sucesso através de uma terapêutica preservadora de órgãos, a maioria irá apresentar uma recidiva ou progressão. Esta taxa de recidiva/progressão elevada exige uma monitorização diligente e exata que permita o diagnóstico e o tratamento precoces; uma monitorização dessa natureza melhora dramaticamente a sobrevivência.³

São atualmente necessárias soluções de teste com sensibilidade melhorada e tempo de retorno dos resultados melhorado para a vigilância de pacientes com historial de cancro da bexiga. O utiliza os sistemas do instrumento GeneXpert da Cepheid para medir a expressão de cinco mARN-alvo numa amostra de urina mictada num cartucho autónomo. Esta solução rápida e fácil de utilizar requer menos de dois minutos de tempo de intervenção e proporciona um tempo de retorno dos resultados total de aproximadamente 90 minutos.

5 Princípio do procedimento

Os sistemas do instrumento GeneXpert (GX) automatizam e integram o processamento de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a deteção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas utilizando ensaios de reação em cadeia da polimerase (PCR) e transcriptase reversa (RT-PCR) em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-carregado para a execução de testes e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorre esse processo. Os cartuchos são autónomos e as amostras nunca entram em contacto com as peças em funcionamento dos módulos do instrumento, minimizando-se assim a contaminação cruzada entre amostras. Para uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*.

O Xpert Bladder Cancer Monitor inclui reagentes para a deteção de cinco mARN-alvo (ABL1, ANXA10, UPK1B, CRH e IGF2). O ABL1 funciona como controlo de adequação da amostra (Sample Adequacy Control, SAC). O ABL1 assegura que a amostra contém células humanas e ARN humano. É necessário um sinal de ABL1 positivo para se obter um resultado de teste válido. Há um controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC) incluído para verificar a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. Há um controlo interno da Cepheid (Cepheid Internal Control, CIC), concebido para detetar a inibição da RT-PCR em tempo real associada à amostra, incluído em cada cartucho.

As amostras de urina têm de ser tratadas primeiro com o kit de reagente para transporte de urina Xpert®, transferindo 4,5 ml de urina para o tubo de reagente para transporte de urina e invertendo-o três vezes para misturar. A pipeta de transferência fornecida com o Xpert Bladder Cancer Monitor é utilizada para transferir 4 ml de urina tratada para a câmara da amostra do cartucho.

Todos os reagentes necessários para a preparação da amostra e para a análise de RT-PCR encontram-se pré-carregados no cartucho. As células na amostra de urina são capturadas num filtro e lisadas por ultra-sons. O ácido nucleico libertado é eluído, misturado com reagentes de RT-PCR secos e a solução é transferida para o tubo de reação para RT-PCR e deteção. O tempo para a obtenção de resultados é de aproximadamente 90 minutos.

O Xpert Bladder Cancer Monitor fornece os resultados de teste **POSITIVO (POSITIVE)** ou **NEGATIVO (NEGATIVE)** com base nos resultados de um algoritmo de análise discriminante linear (Linear Discriminant Analysis, LDA) que utiliza os resultados de limite de ciclo (Cycle threshold, Ct) dos cinco mARN-alvo. Não é necessário detectar todos os mARN-alvo para obter um resultado de teste **POSITIVO (POSITIVE)**.

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



O kit do Xpert Bladder Cancer Monitor contém reagentes suficientes para processar 10 amostras de controlo de qualidade e/ou amostras de urina tratadas com o kit de reagente para transporte de urina Xpert (n.º de catálogo GXUTR-CE-30). O kit do Xpert Bladder Cancer Monitor contém o seguinte:

Cartuchos do Xpert Bladder Cancer Monitor com tubos de reação integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> • Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas) • Reagente de eluição 	1 de cada por cartucho 1,5 ml por cartucho
Pipetas de transferência descartáveis	1 embalagem de dez por kit
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> • Ficheiro de definição do ensaio • Instruções de utilização (folheto informativo) 	

Nota As Fichas de Dados de Segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

Nota A seroalbumina bovina (Bovine Serum Albumin, BSA) presente nas esferas deste produto foi produzida e fabricada a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

7 Conservação e manuseamento

- Conserve os cartuchos e reagentes do Xpert Bladder Cancer Monitor entre 2 °C e 28 °C.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Utilize o cartucho no período de 30 minutos depois de abrir a tampa.
- Não utilize um cartucho com fuga.

8 Materiais necessários, mas não fornecidos

- Xpert Urine Transport Reagent Kit (n.º de catálogo GXUTR-CE-30) para tratar amostras de urina primárias. O kit consiste num tubo de reagente para transporte de urina Xpert e numa pipeta de transferência.
- Sistemas do instrumento GeneXpert Dx ou sistemas GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador, leitor de código de barras, manual do utilizador.
 - Para o sistema GeneXpert Dx: software GeneXpert Dx versão 4.7b ou posterior
 - Para sistemas GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: software Xpertise versão 6.4b ou posterior
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.

9 Advertências e precauções

- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Todas as amostras biológicas devem ser tratadas como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos. Todas as amostras humanas devem ser tratadas com precauções padrão. São disponibilizadas linhas de orientação para manuseamento de amostras pela Organização Mundial da Saúde ou pelos Centros para Controlo e Prevenção de Doenças dos EUA.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- As características do desempenho deste teste só foram estabelecidas com o tipo de amostra indicado na secção Utilização prevista. Não se avaliou o desempenho deste teste com outros tipos de amostras.
- As amostras de urina têm de ser tratadas com o Xpert Urine Transport Reagent Kit (n.º de catálogo GXUTR-CE-30).
- Não abra um cartucho do Xpert Bladder Cancer Monitor exceto quando estiver a adicionar uma amostra tratada com o reagente para transporte de urina Xpert.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou sido agitado.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho de utilização única do Xpert Bladder Cancer Monitor é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.

- A pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir apenas uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis usadas.
- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho ou no rótulo do código de barras.
- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de amostras de doentes diferentes para evitar a contaminação de amostras ou reagentes.
- Consultar os técnicos responsáveis pelos resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não utilizados. Verificar as regulamentações estaduais, territoriais ou locais, uma vez que estas poderão diferir das regulamentações nacionais de eliminação de resíduos. Este material pode apresentar características de resíduos perigosos, sendo necessário cumprir requisitos de eliminação específicos. As instituições devem verificar os respetivos requisitos de eliminação de resíduos perigosos.

10 Riscos químicos

Este material não é considerado perigoso de acordo com o Regulamento (CE) n.º 1272/2008 (CLP).

11 Colheita, transporte e conservação de amostras

- Só utilizar com amostras de urina tratadas com o Xpert Urine Transport Reagent Kit (n.º de catálogo GXUTR-CE-30). Siga as instruções do fabricante para a colheita e o manuseamento de amostras de urina.
- As amostras de urina devem ser transferidas para os tubos de reagente para transporte de urina Xpert dentro de uma hora após a colheita primária. Antes da transferência da urina para o tubo de reagente para transporte de urina Xpert, assegure-se de que o recipiente de colheita de amostra foi invertido três vezes para misturar.
- As amostras de urina conservadas em tubos de reagente para transporte de urina Xpert devem ser transportadas para o laboratório a 2 °C–28 °C.
- As amostras de urina em tubos de reagente para transporte de urina Xpert permanecem estáveis durante até sete dias a 2 °C–28 °C antes da realização de testes com o Xpert Bladder Cancer Monitor.

12 Procedimento

12.1 Preparação do cartucho

Importante Iniciar o teste dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.

1. Remova o cartucho da embalagem.
2. Inverta o tubo de reagente para transporte de urina Xpert três vezes para misturar.
3. Abra a tampa do cartucho.
4. Abra a tampa do tubo para transporte.
5. Encha a amostra até à marca de 4 ml.
 - a) Comprima o bolbo da pipeta de transferência.
 - b) Introduza a pipeta no tubo para transporte.
 - c) Liberte o bolbo para encher a pipeta de transferência até à marca de 4 ml.
 - d) Guarde a amostra restante a 2 °C–28 °C, caso seja necessário repetir o teste.

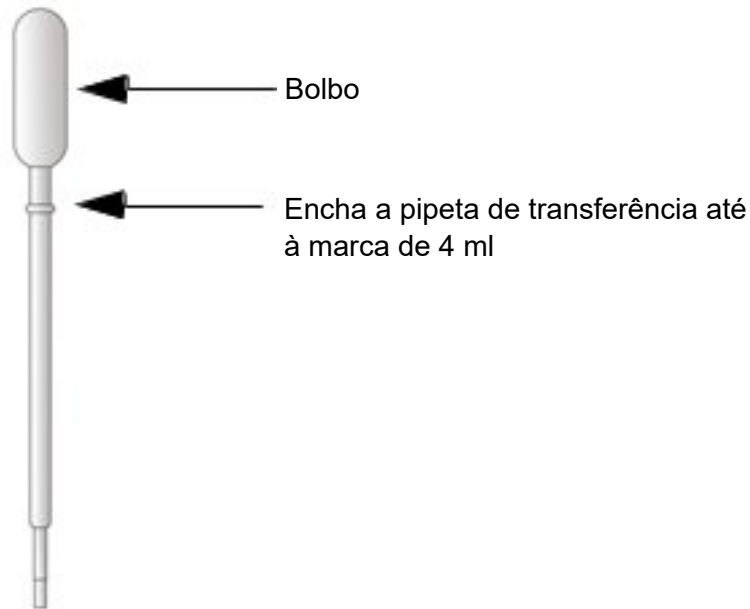


Figura 1. Pipeta de transferência do Xpert Bladder Cancer Monitor

6. Esvazie o conteúdo da pipeta para dentro da câmara da amostra do cartucho.



Figura 2. Cartucho do Xpert Bladder Cancer Monitor (vista de cima)

7. Feche a tampa do cartucho.

12.2 Iniciar o teste

Importante

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio (Assay Definition File, ADF) do Xpert Bladder Cancer Monitor foi importado para o software.

Esta secção enumera os passos predefinidos para utilizar o sistema do instrumento GeneXpert. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do modelo que estiver a utilizar.

Nota Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o sistema do instrumento GeneXpert:
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. O software GeneXpert iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, ative o instrumento. O software Xpertise iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe. Na janela do Sistema GeneXpert, clique em **Criar teste (Create test)** (GeneXpert Dx) ou clique em **Encomendas (Orders)** e em **Encomendar teste (Order Test)** (Infinity). A janela **Criar teste (Create Test)** abre-se.
3. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta. A ID da amostra (Sample ID) é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela Ver resultados (View Results) e em todos os relatórios. Aparece a caixa de diálogo Ler cartucho (Scan Cartridge).
4. Leia o código de barras no cartucho do Xpert Bladder Cancer Monitor. Aparece a janela Criar teste (Create Test). Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar ensaio (Select Assay), ID de lote de reagente (Reagent Lot ID), Número de série do cartucho (Cartridge SN).
5. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe se lhe for solicitada.
6. Para o sistema GeneXpert Infinity, coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.
- ou
- No caso do instrumento GeneXpert Dx:
 - a) Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
 - b) Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
 - c) Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo. Retire o cartucho.
 - d) Elimine os cartuchos usados nos recipientes para resíduos de amostras apropriados, de acordo com as práticas padrão da sua instituição. Ver Secção 9.

13 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções mais detalhadas sobre como visualizar e imprimir os resultados, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do instrumento utilizado.

1. Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
2. Após a conclusão do teste, clique no botão **Relatório (Report)** da janela Ver resultados (View Results) para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

14 Controlo de qualidade

Controlos de qualidade integrados

Cada teste inclui um controlo interno (CIC), um controlo de verificação da sonda (PCC) e um controlo ABL1.

- **Controlo interno da Cepheid (CIC):** O CIC é um controlo de Armored RNA® sob a forma de uma esfera seca, sendo incluído em cada cartucho para detetar a inibição da RT-PCR associada à amostra. O CIC é aprovado se cumprir os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC):** Antes do início da PCR, o sistema do instrumento GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O PCC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlo ABL1:** este controlo de adequação da amostra (SAC) assegura que a amostra contém células humanas e ARN humano. O sinal de ABL1 é necessário para se obter um resultado de teste válido. Um ABL1 negativo indica que a amostra não contém células humanas suficientes ou que a amostra se degradou.
- **Controlos externos (não fornecidos):** Devem ser utilizados controlos externos de acordo com as exigências de organizações de acreditação locais, estaduais e federais, conforme aplicável.

15 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpretados pelo sistema do instrumento GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados e são apresentados na janela **Ver resultados (View Results)** nos separadores Resultados de teste (Test Results), Totais LDA (LDA Totals) e Resultado do analito (Analyte Result). O resultado, os totais LDA e os resultados do analito também são mostrados no relatório de teste.

Tabela 1. Resultados representativos e interpretação do Xpert Bladder Cancer Monitor

Resultado	Interpretação
<p>POSITIVO (POSITIVE) Consulte Figura 3 e Figura 4.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • O total LDA (resultado de um algoritmo que utiliza os valores de Ct de ABL1, ANXA10, UPK1B, CRH e IGF2) é igual ou superior ao cutoff. • O total LDA tem de estar no intervalo válido de -20 a 20. • ABL1: O Ct de ABL1 está dentro do intervalo válido. • CIC: Não aplicável. Os resultados do CIC são ignorados porque os alvos do teste em amostras positivas podem interferir com este controlo. • PCC – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
<p>NEGATIVO (NEGATIVE) Consulte Figura 5 e Figura 6</p>	<ul style="list-style-type: none"> • O total LDA é inferior ao cutoff. • ABL1: O Ct de ABL1 está dentro do intervalo válido. • CIC: O Ct de CIC está dentro do intervalo válido. • PCC – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
<p>INVÁLIDO (INVALID) Consulte Figura 7 e Figura 8</p>	<p>A presença ou ausência dos mARN-alvo não pode ser determinada.</p> <ul style="list-style-type: none"> • ABL1 e CIC: O Ct de ABL1 e/ou o Ct de CIC não cumprem os critérios de aceitação ou uma ou mais das curvas de crescimento não cumprem os critérios de aceitação. • PCC – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. • O conteúdo celular na amostra é demasiado baixo, a PCR foi inibida ou a amostra não foi adequadamente colhida.
<p>ERRO (ERROR)</p>	<p>A presença ou ausência dos mARN-alvo não pode ser determinada.</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCC – FALHOU (FAIL); um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam. • Os possíveis motivos para o erro incluem o enchimento inadequado do tubo de reação, a de um problema de integridade da sonda de reagentes, a ultrapassagem dos limites de pressão ou a deteção de um erro de posicionamento da válvula.
<p>SEM RESULTADO (NO RESULT)</p>	<p>A presença ou ausência dos mARN-alvo não pode ser determinada.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer. • PCC – NA (não aplicável)

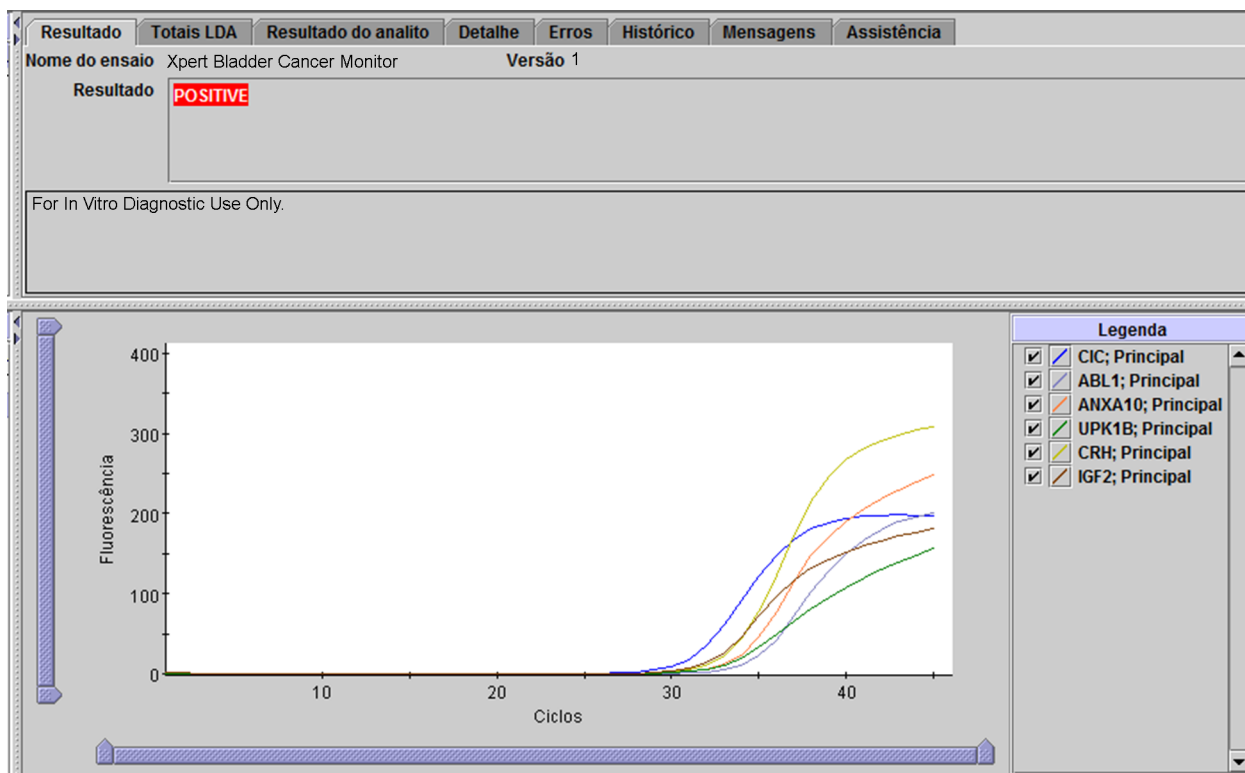


Figura 3. RESULTADO POSITIVO

Nome da Categoria	Mín. Válido	Cutoff	Máx. válido	Total LDA
LDA	-20,0000	0,5000	20,0000	0,7375

Figura 4. Total LDA – RESULTADO POSITIVO

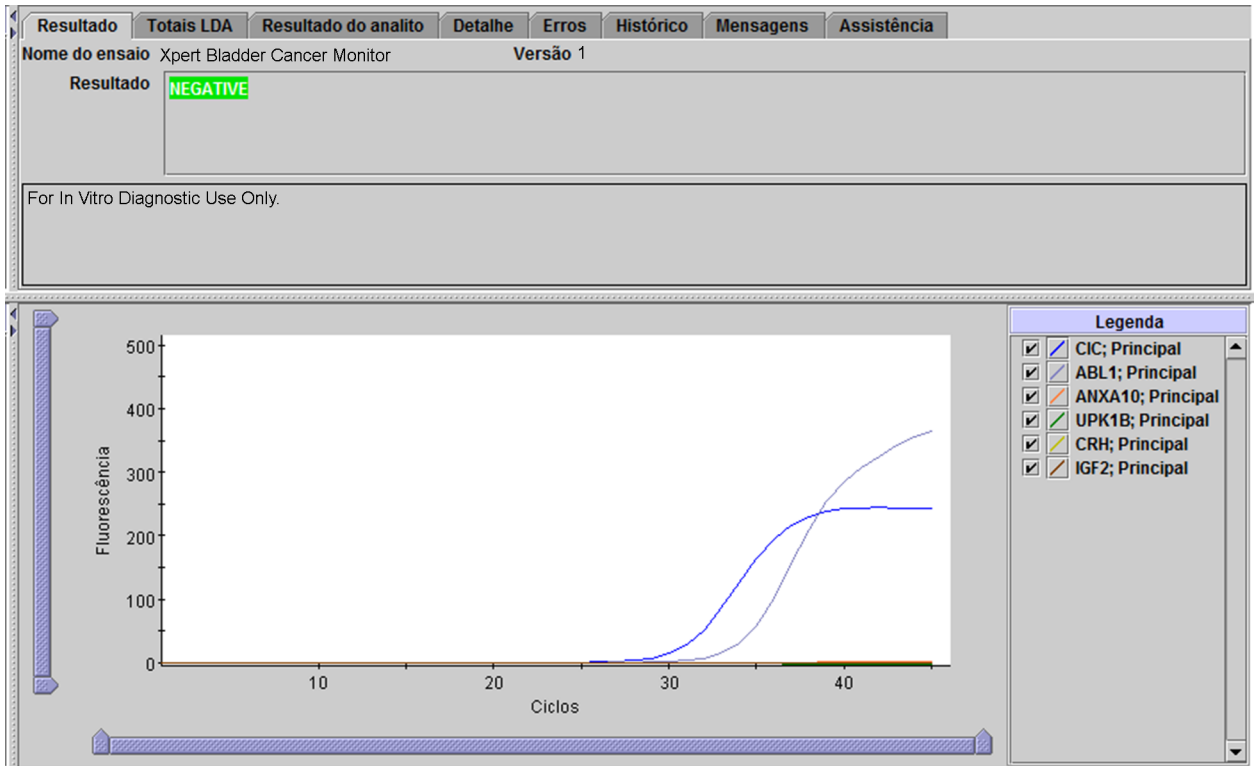


Figura 5. RESULTADO NEGATIVO

Nome da Categoria	Mín. Válido	Cutoff	Máx. válido	Total LDA
LDA	-20,0000	0,5000	20,0000	0,0138

Figura 6. Total LDA – NEGATIVO

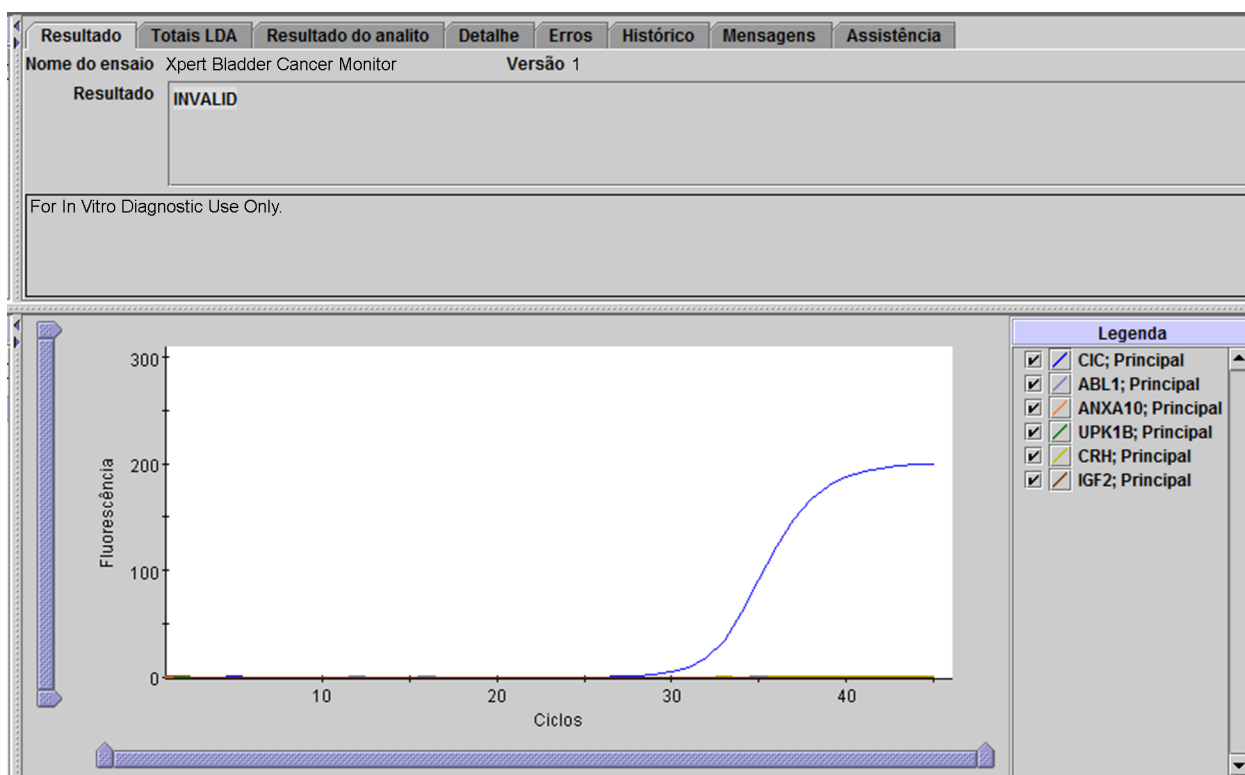


Figura 7. INVÁLIDO (INVALID)

Nome da Categoria	Mín. Válido	Cutoff	Máx. válido	Total LDA
LDA	-20,0000	0,5000	20,0000	

Figura 8. Total LDA – INVÁLIDO

16 Repetição de um teste

16.1 Procedimento de repetição do teste

Para repetir um teste com resultado SEM RESULTADO (NO RESULT), INVÁLIDO (INVALID) ou ERRO (ERROR), utilize um cartucho novo (não reutilize o cartucho).

1. Retire um novo cartucho do kit.
2. Consulte Secção 12.1, e Secção 12.2.

17 Limitações

- O desempenho do Xpert Bladder Cancer Monitor foi validado utilizando os procedimentos indicados neste folheto informativo e utilizando apenas amostras de urina colhidas de sujeitos com idade entre 30 e 96 anos. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- O Xpert Bladder Cancer Monitor deteta mARN de ABL1, CRH, IGF2, UPK1B e ANXA10 em amostras de urina mictada. As doenças e os medicamentos que provoquem o aumento dos níveis destes mARN na urina poderão originar um resultado de teste positivo.
- Os resultados do Xpert Bladder Cancer Monitor devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos à disposição do médico.
- Podem ocorrer resultados de teste erróneos devido a incorreções na colheita, no manuseamento ou na conservação das amostras ou devido a troca de amostras. É necessário cumprir cuidadosamente as instruções deste folheto informativo para evitar resultados erróneos.
- Poderá observar-se interferência no ensaio na presença de albumina, bilirrubina, hemoglobina, sangue total, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, Bacillus Calmette-Guerin (BCG), nitrofurantoína e fenazopiridina-HCl. Os níveis máximos tolerados destas substâncias, conforme indicados na Tabela 7, são 2,4 g/dl para albumina, 11,25 mg/dl para bilirrubina, 0,96 g/dl para hemoglobina, 1% para sangue total, 6e6 ufc/ml para *Candida albicans*, 6e5 ufc/ml para *Escherichia coli*, 6e7 ufc/ml para *Pseudomonas aeruginosa*, 5,5e6 ufc/ml para BCG, 60 mg/dl para nitrofurantoína e 25,32 mg/dl para fenazopiridina-HCl.
- Mutações ou polimorfismos em regiões de ligação de primers ou sondas podem resultar em resultados erróneos mas credíveis.

18 Valores esperados

18.1 Valores em voluntários saudáveis e sujeitos encaminhados por urologia

O Xpert Bladder Cancer Monitor foi realizado com amostras de urina de voluntários saudáveis e sujeitos encaminhados por urologia sem sintomas ou historial de cancro da bexiga, como parte de um estudo de especificidade do teste (consultar também “Especificidade” em “Desempenho clínico” abaixo). A distribuição dos totais LDA é mostrada na #unique_29/unique_29_Connect_42_fig_wr3_h4y_nkb. O cutoff do teste é indicado pela linha azul pontuada.

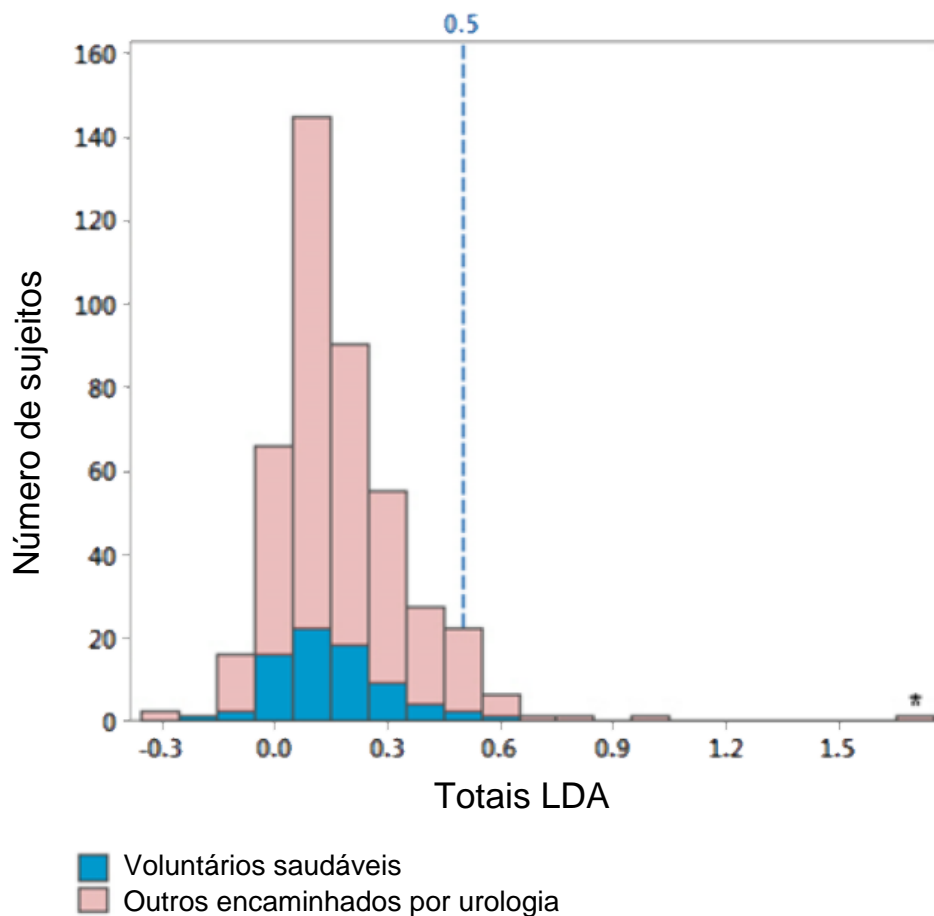


Figura 9. Histograma dos totais LDA do Bladder Cancer Monitor em voluntários saudáveis e outros encaminhados por urologia

* Um sujeito com diagnóstico de cancro da bexiga apresentou um total LDA máximo (valor atípico mais à direita)

18.2 Valores em pacientes com historial de cancro da bexiga

A distribuição dos resultados de total LDA em amostras colhidas num estudo prospetivo de sujeitos com diagnóstico inicial ou recidiva de cancro da bexiga no prazo de nove meses desde a inclusão é mostrada na #unique_31/unique_31_Connect_42_fig_wr3_h4y_nkb. (Consultar também a #unique_32). A distribuição é mostrada para sujeitos que tinham (POSIT.) e não tinham (NEGAT.) uma recidiva na altura da inclusão, com base em resultados de cistoscopia e histologia. O cutoff do teste é indicado pela linha azul pontilhada.

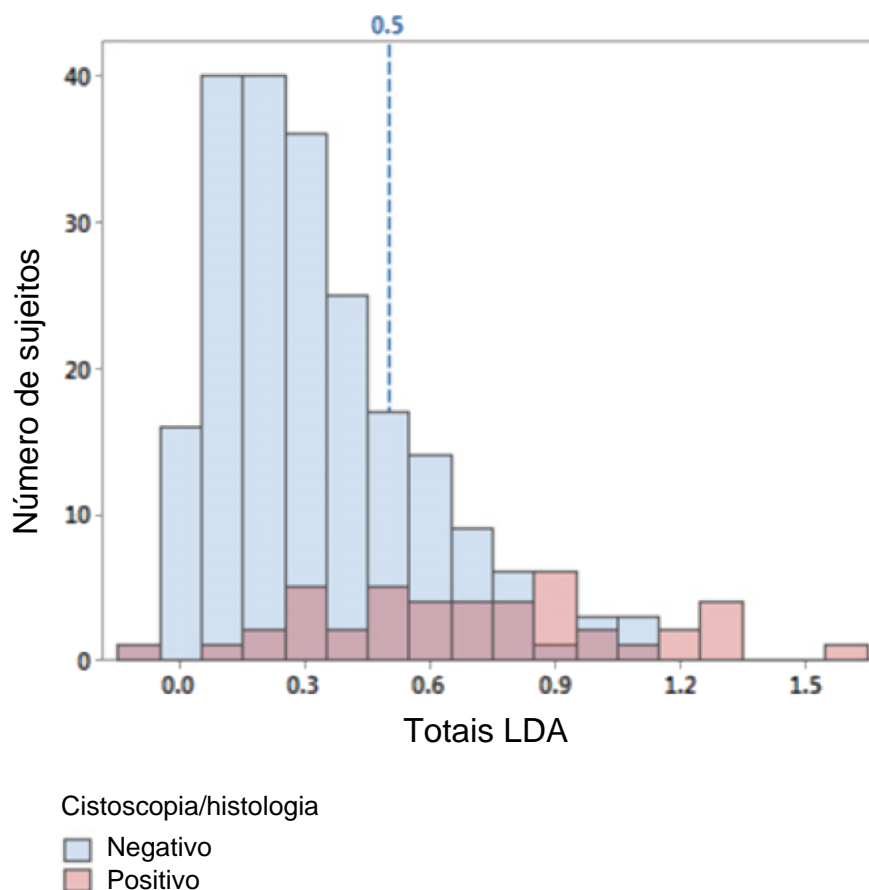


Figura 10. Histograma de totais LDA do Xpert Bladder Cancer Monitor em sujeitos com historial de cancro da bexiga

19 Características do desempenho

19.1 Desempenho clínico vs. padrão de cuidados

As características do desempenho do Xpert Bladder Cancer Monitor foram avaliadas em centros nos EUA, no Canadá e na UE. Os sujeitos incluíram pessoas que apresentavam um diagnóstico inicial ou recidiva de cancro da bexiga no prazo de nove meses anteriores à inclusão. No caso dos sujeitos elegíveis, as amostras de urina mictada eram colhidas para testes com o Xpert Bladder Cancer Monitor. Os resultados do Xpert Bladder Cancer Monitor eram comparados com cistoscopia, confirmando-se através de histologia as cistoscopias positivas e duvidosas. Os doentes com cistoscopias positivas ou duvidosas mas resultados de histologia negativos foram considerados negativos para recidiva. Os sujeitos com resultados de cistoscopias positivos e/ou duvidosos e com ausência de histologia foram excluídos das análises. Incluíram-se inicialmente neste estudo 363 sujeitos, dos quais 255 foram elegíveis para inclusão e tinham resultados válidos no Xpert Bladder Cancer Monitor.

Os dados demográficos para os 255 sujeitos são resumidos na Tabela 2.

Tabela 2. Resumo demográfico — Estudo de recidiva de cancro da bexiga

Categoria	N (%)	
Sexo	Masculino	204 (80,0%)
	Feminino	51 (20,0%)

Categoria		N (%)	
Raça	Caucasiana	244	(95,7%)
	Hispânica	2	(0,8%)
	Negra ou afro-americana	7	(2,7%)
	Asiática	1	(0,4%)
	Outra	1	(0,4%)
Historial tabágico	Fumador atual	46	(18,0%)
	Ex-fumador	149	(58,4%)
	Nunca fumou	60	(23,5%)
Historial de terapia IV	Quimioterapia	71	(27,8%)
	Imunoterapia	87	(34,1%)
	Sem historial de tratamento	97	(38,0%)
Idade (anos)			Média ± DP (Intervalo)
	Global	255	71,1 ± 10,8 (30-96)
	Masculino	204 (80,0%)	71,4 ± 10,9 (30-93)
	Feminino	51 (20,0%)	69,7 ± 10,6 (38-96)

Globalmente, o Xpert Bladder Cancer Monitor demonstrou ter uma sensibilidade de 75,0% e uma especificidade de 80,6% em relação a cistoscopia/histologia (Tabela 3). A sensibilidade em tumores de alto grau foi de 84,0% ([21/25] IC de 95%: 65,3-93,6). A sensibilidade em tumores de baixo grau foi de 63,2% ([12/19] IC de 95%: 41,0-80,9).

Tabela 3. Xpert Bladder Cancer Monitor vs. cistoscopia/histologia

	Cistoscopia/histologia			
		Pos	Neg	Total
Xpert Bladder	Pos	33	41	74
	Neg	11	170	181
	Total	44	211	255
	Sensibilidade	75,0% (IC de 95%: 60,6-85,4)		
Especificidade	80,6% (IC de 95%: 74,7-85,3)			
VPP	44,6% (IC de 95%: 33,8-55,9)			
VPN	93,9% (IC de 95%: 89,4-96,4)			
Precisão	79,6% (IC de 95%: 74,2-84,1)			
Prevalência	17,3% (IC de 95%: 13,1-22,4)			

Os testes do Xpert Bladder Cancer Monitor foram bem-sucedidos em 96,1% (249/259) das amostras do estudo à primeira tentativa, apresentando uma taxa global de indeterminados de 3,9%. Os casos indeterminados incluíram 6 resultados **INVÁLIDO (INVALID)**, 3 resultados **ERRO (ERROR)** e um resultado **SEM RESULTADO (NO RESULT)**. Repetiu-se o teste para sete dos dez casos indeterminados, dos quais seis apresentaram resultados válidos após a repetição do ensaio. A taxa global de sucesso do teste foi de 98,5% (255/259).

19.2 Especificidade

Para além da especificidade clínica de 80,8% estabelecida no estudo de monitorização de cancro da bexiga, realizou-se um estudo prospetivo multicêntrico para estabelecer a especificidade do Xpert Bladder Cancer Monitor em voluntários saudáveis e pacientes de urologia sem historial ou evidências clínicas de cancro da bexiga. Incluíram-se inicialmente neste estudo 537 sujeitos, dos quais 508 foram elegíveis para inclusão e tinham resultados válidos no Xpert Bladder Cancer Monitor. A população de pacientes é resumida na Tabela 4.

Tabela 4. Resumo demográfico — Estudo de especificidade do Xpert Bladder Cancer Monitor

Categoria		N(%)	
Sexo	Masculino	341 (67,1%)	
	Feminino	167 (32,9%)	
Historial tabágico	Fumador atual	52 (10,2%)	
	Ex-fumador	196 (38,6%)	
	Nunca fumou	260 (51,2%)	
Historial de cancro	Historial de cancro GU ^a	73 (14,4%)	
	Historial de cancro não GU	32 (6,3%)	
	Sem historial de cancro	403 (79,3%)	
Idade (anos)			Média ± DP (Intervalo)
	Global	508	62,1 ± 15,1 (19-91)
	Masculino	341 (67,1%)	64,5 ± 14,9 (20-91)
	Feminino	167 (32,9%)	57,2 ± 14,3 (19-89)

^a GU=Geniturinário

A especificidade global do Xpert Bladder Cancer Monitor em voluntários saudáveis e sujeitos submetidos a uma avaliação de urologia sem historial nem evidências clínicas de cancro da bexiga foi de 95,3% (484/508). As amostras de 98,6% (73/74) dos voluntários saudáveis foram negativas no Xpert Bladder Cancer Monitor. Um resumo da especificidade global e da especificidade por grupo é mostrado na Tabela 5.

Tabela 5. Xpert Bladder Cancer Monitor vs. estado clínico

Grupo	N	VP	FP	VN	FN	Especificidade(%) (IC de 95%)
Voluntários saudáveis	74	NA	1	73	NA	98,6% (92,7-99,8)
Outra	434	NA	23	411	NA	94,7% (92,2-96,4)
Combinado	508	NA	24	484	NA	95,3% (93,1-96,8)

VP = verdadeiro positivo, FP = falso positivo, VN = verdadeiro negativo, FN = falso negativo. Outro = sujeitos encaminhados para uma consulta de urologia sem historial de cancro da bexiga ou evidências clínicas de cancro da bexiga.

20 Desempenho analítico

20.1 Entrada mínima para o ensaio

As concentrações de células e mARN de ABL1, que estão altamente correlacionadas, variam muito entre amostras de urina. A RT-PCR de ABL1 apresenta resultados robustos para um limite de ciclo de 36,0. O ABL1 funciona como controle de adequação da amostra (SAC) e o Ct máximo permitido para um resultado de teste válido está estabelecido como 36,0, definindo a entrada mínima para o ensaio. Utilizando este cutoff de adequação da amostra com 255 amostras de urina mictada, a taxa de indeterminados foi de 3,9%, a sensibilidade foi de 75,0% e a especificidade foi de 80,6% (consultar a Desempenho vs. padrão de cuidados).

O desempenho do ensaio foi testado próximo do cutoff de adequação da amostra e a concentração celular mínima necessária para cumprir o requisito de adequação da amostra estimou-se com duas linhas celulares (SW780, ATCC® CRL-2169 e BE(2)-c, ATCC® CRL-2268). Primeiro, foram preparadas amostras em branco (n = 30) adicionando amostras de urina individuais a volumes iguais de reagente para transporte de urina Xpert e filtrando-as para remover células endógenas. Foram testadas duas réplicas com cada um de dois lotes de reagente para cada amostra de urina. Todos os resultados de teste foram **INVÁLIDO (INVALID)** porque não foi detetado ABL1 ou o Ct era superior a 36,0. Os volumes restantes das amostras em branco foram então agrupados e utilizados como diluente para diluições das linhas celulares.

A concentração celular mínima necessária para alcançar 19 de 20 réplicas com Ct de ABL1 igual ou inferior a 36,0 foi estimada utilizando regressão logística e testando réplicas de 20 a um mínimo de cinco concentrações em três dias de teste. O estudo foi realizado com dois lotes diferentes do Xpert Bladder Cancer Monitor e os resultados são resumidos na Tabela 6.

Tabela 6. Entrada mínima para o ensaio no Xpert Bladder Cancer Monitor

Linha celular	Estimativas (logit) de entrada mínima para o ensaio (em células/ml de amostra sem conservante) (intervalos de confiança de 95% inferior e superior)	
	Lote 1	Lote 2
SW780	13,4 (11,4-18,7)	12,4 (10,6-16,9)
BE(2)-c	42,6 (34,0-61,9)	22,5 (19,1-30,3)

20.2 Especificidade analítica

Os primers e as sondas do Xpert Bladder Cancer Monitor foram concebidos para amplificar o mARN e evitar a amplificação de ADN genômico humano. Para determinar se o Xpert Bladder Cancer Monitor amplifica e deteta ADN genômico humano, introduziu-se ADN genômico humano (Promega G304A) diretamente no ensaio de RT-PCR a 40 ng/ml, 400 ng/ml e 4 µg/ml. Testaram-se oito réplicas por concentração de ADN genômico humano e oito controlos sem ADN adicionado. Os resultados de Ct para todos os alvos (ABL1, ANXA10, UPK1B, CRH e IGF2) foram zero (alvos não detetados) em todas as réplicas. Estes resultados demonstram que não se detetou reatividade cruzada com ADN genômico humano no Xpert Bladder Cancer Monitor. O ADN genômico humano também não interferiu com a reação de CIC nas concentrações testadas.

20.3 Substâncias que interferem

Num estudo não clínico, avaliaram-se com o Xpert Bladder Cancer Monitor 26 substâncias potencialmente interferentes, incluindo três micro-organismos que podem estar presentes em amostras de urina mictada.

Para determinar se a presença de substâncias potencialmente interferentes provocava interferência no ensaio, foram testadas oito amostras negativas de réplicas e oito amostras positivas de réplicas por substância. As soluções das substâncias potencialmente interferentes foram preparadas e testadas a concentrações iguais ou superiores às especificadas na Tabela 7, que indica a concentração máxima tolerada para cada substância. Todas as amostras individuais foram conservadas adicionando-lhes um volume igual de reagente para transporte de urina Xpert e depois combinadas para criar grupos negativos e positivos. As substâncias e os micro-organismos foram depois diluídos em grupos negativos e positivos para a realização de testes.

O efeito de cada substância potencialmente interferente em réplicas positivas e negativas foi avaliado comparando o total LDA gerado na presença da substância com o total LDA de controlos sem a substância.

Das 26 substâncias potencialmente interferentes, dois micro-organismos, *Pseudomonas aeruginosa* a uma concentração de $6e8$ ufc/ml e *Candida albicans* a uma concentração de $6e7$ ufc/ml, provocaram resultados de teste **INVÁLIDO (INVALID)**. Duas substâncias causaram efeitos inibitórios estatisticamente significativos no LDA total, superiores a dois desvios padrão em relação à média do controlo: albumina (a 3 g/dl), hemoglobina (a 1,2 g/dl), *Escherichia coli* (a $6e6$ ufc/ml), bilirrubina (a 15 mg/dl), Bacilo de Calmette-Guerin (BCG) (a $2,2e7$ ufc/ml) e sangue total (a 1,5%). No caso destas substâncias, efetuaram-se titulações e determinaram-se as concentrações máximas toleradas, sendo indicadas na Tabela 7.

Tabela 7. Substâncias testadas e concentrações máximas toleradas

Analito	Concentração testada*	
	(Unidades do SI)	(Unidades convencionais)
Possíveis constituintes da urina		
Albumina	30 g/l	2,4 g/dl
Ácido ascórbico (vitamina C)	342 μ mol/l	6 mg/dl
Bilirrubina (não conjugada)	192,4 μ mol/l	11,25 mg/dl
Cafeína	308 μ mol/l	598 μ g/l
Etanol	21,7 mmol/l	100 mg/dl
Glicose	6,7 mmol/l	120 mg/dl
Hemoglobina	12 g/l	0,96 g/dl
Leucócitos	n. a.	1e5/ml
Ácido úrico	0,5 mmol/l	9 mg/dl
Cloreto de sódio	128,3 mmol/l	750 mg/dl
Nicotina	6,2 μ mol/l	100,6 μ g/dl
Sangue total	n. a.	1% v/v
Possíveis contaminantes microbianos		
<i>Candida albicans</i>	n. a.	6e6 ufc/ml
<i>Escherichia coli</i>	n. a.	6e5 ufc/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	n. a.	6e7 ufc/ml
Agentes terapêuticos		
Paracetamol	199 μ mol/l	30 μ g/ml
Bacillus Calmette-Guerin (BCG)	n. a.	5,5e6 ufc/ml
Doxiciclina	67,5 μ mol/l	3 mg/dl
Mitomicina C	448,7 μ mol/l	15 mg/dl
Ácido acetilsalicílico	3,62 mmol/l	65,2 mg/dl
Tiotepa	1,7 mmol/l	32,6 mg/dl
Ampicillin	152 μ mol/l	1,72 mg/dl
Doxorrubicina-HCl	1,1 mmol/l	64,3 mg/dl
Nitrofurantóina	2,5 mmol/l	60 mg/dl
Fenazopiridina-HCl	1,0 mmol/l	25,32 mg/dl
Trimetoprima	2,1 mmol/l	60 mg/dl

Analito	Concentração testada*	
	(Unidades do SI)	(Unidades convencionais)
* Concentrações para urina sem conservante (limpa)		

20.4 Contaminação por transferência (carry-over)

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert autônomos, de utilização única, minimizam a contaminação por transferência de amostras muito positivas para amostras negativas subsequentemente executadas no mesmo módulo GeneXpert. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert imediatamente após uma amostra muito positiva para cancro da bexiga. A amostra muito positiva consistiu nas linhas celulares SW780 (ATCC® CRL-2169) a 1,5e5 células/ml e BE(2)-c (ATCC® CRL-2268) a 2,5e4 células/ml, num meio de 50% de reagente para transporte de urina Xpert e 50% de urina sintética. O esquema de testes foi repetido 43 vezes utilizando um único módulo GeneXpert, correspondendo a um total de 21 amostras muito positivas e 22 negativas. Todas as 21 amostras muito positivas foram corretamente indicadas como **POSITIVO (POSITIVE)**. Vinte e uma das amostras negativas foram corretamente indicadas como **NEGATIVO (NEGATIVE)** e uma amostra negativa foi indicada como **INVÁLIDO (INVALID)** porque o valor do Ct de CIC estava fora do intervalo válido.

20.5 Reprodutibilidade do ensaio

Avaliou-se a reprodutibilidade do Xpert Bladder Cancer Monitor utilizando um painel de cinco amostras preparadas num meio de matriz constituída por 50% de reagente para transporte de urina Xpert e 50% de urina, abrangendo o intervalo que pode ser indicado por LDA. Dois operadores em cada um dos três centros de estudo testaram um painel de cinco amostras em nove dias de teste (cinco amostras x nove dias x dois operadores x duas réplicas x três centros). Foram utilizados três lotes de cartuchos do Xpert Bladder Cancer Monitor em cada um dos três centros de teste. O Xpert Bladder Cancer Monitor foi realizado em conformidade com o procedimento do Xpert Bladder Cancer Monitor.

A reprodutibilidade do Xpert Bladder Cancer Monitor foi avaliada em termos dos totais LDA para cada amostra, em relação aos valores esperados. A média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) entre centros, entre lotes, entre dias, entre operadores e intra-ensaio para cada membro do painel são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Resumo dos dados de reprodutibilidade

Total LDA esperado	Real (IC de 95%)	N	Centro/inst.		Lote		Dia		Operador/execução		Dentro da execução		Total	
			DP	A (%) ^a	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	CV
-0,01	0,00 (-0,03, 0,03)	108	0,00	0,00	0,01	44,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,01	55,7	0,02	19,06
0,32	0,35 (0,16, 0,54)	108	0,00	0,00	0,04	16,8	0,03	12,7	0,02	6,0	0,08	64,5	0,10	0,28
0,57	0,60 (0,47, 0,73)	108	0,00	0,00	0,04	47,7	0,01	2,8	0,00	0,0	0,05	49,5	0,06	0,11
0,62	0,69 (0,49, 0,89)	108	0,00	0,00	0,06	35,7	0,00	0,0	0,04	16,2	0,07	48,1	0,10	0,15

Total LDA esperado	Real (IC de 95%)	N	Centro/ inst.		Lote		Dia		Operador/ execução		Dentro da execução		Total	
			DP	A (%) ^a	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	CV
1,27	1,28 (1,13, 1,43)	108	0,00	0,00	0,07	72,0	0,00	0,1	0,00	0,0	0,04	27,9	0,08	0,06

^a (%) é a contribuição do componente de variância para o CV total.

21 Referências

1. Burger M et al, Epidemiology and Risk Factors of Urothelial Bladder Cancer. Eur Urol 63 (2013) 234-241.
2. Siegel R, Miller K, Jemal A. Cancer Statistics, 2015. CA: Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29.
3. Hollenbeck BK, Dunn RL, Ye Z, Hollingsworth JM, Skolarus TA, Kim SP, Montie JE, Lee CT, Wood DP Jr, Miller DC. Delays in diagnosis and bladder cancer mortality. Cancer 2010, 116(22):5235-42.

22 Locais das sedes da Cepheid

Sede empresarial

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

23 Assistência técnica

Antes de contactar a Assistência Técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

- Nome do produto
- Número de lote
- Número de série do instrumento
- Mensagens de erro (se houver alguma)
- Versão do software e, caso se aplique, número da etiqueta de serviço do computador

Comunicar incidentes graves associados ao teste à Cepheid e à autoridade competente do Estado-Membro em que ocorreu o incidente grave.

Informações de contacto

Estados Unidos da América

Telefone: + 1 888 838 3222

E-mail: techsupport@cepheid.com

França


Telefone: + 33 563 825 319
















E-mail: support@cepheideurope.com

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: <https://www.cepheid.com/en/CustomerSupport>.

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em www.cepheid.com/en/support/support/order-management.

24 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Marcação CE — Conformidade Europeia

Símbolo	Significado
	Não reutilizar
	Cuidado
	Prazo de validade
	Código de lote
	Consultar as instruções de utilização
	Atenção
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para n testes
	Controlo
	Limites de temperatura
	Mandatário na Comunidade Europeia
	Riscos biológicos
	Mandatário na Suíça
	Importador



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telephone: + 1 408 541 4191 Fax: + 1 408 541 4192 www.cepheid.com



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telephone: + 33 563 825 300 Fax: + 33 563 825 301



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



25 Histórico de revisões

Secção	Descrição da alteração
Tabela de símbolos	Adição do símbolo do CH REP e do importador, bem como definições na tabela de símbolos. Adição da informação do CH REP e do importador, incluindo o endereço na Suíça.
Histórico de revisões	Atualização da tabela relativa ao histórico de revisões.