

Formação técnica Xpert® BCR-ABL Ultra p190

GXBCRABLP190-CE-10

Apenas para utilização com CE-IVD



Agenda da formação

- 1 Descrição geral
- 2 Conservação e manuseamento do kit
- 3 Colheita, armazenamento e transporte de amostras
- 4 Preparação do cartucho
- 5 Controlos de qualidade
- 6 Interpretação dos resultados
- 7 Resolução de problemas
- 8 Procedimentos de repetição do teste



Objetivos da formação

No final da formação, os utilizadores serão capazes de:

- Armazenar e manusear corretamente o kit do cartucho Xpert® BCR-ABL Ultra p190 e colheita da amostra
- Cumprir as devidas precauções de segurança no laboratório
- Colher e transportar amostras adequadas
- Preparar um cartucho e executar o teste Xpert BCR-ABL Ultra p190
- Comunicar os vários resultados gerados pelo software
- Entender a estratégia de controlo do Xpert BCR-ABL Ultra p190

A Solução Cepheid



- Deteção quantitativa
 - Transcritos de ARNm de BCR-ABL1 p190 e ABL1 ARNm em amostras de sangue periférico
- Controlos internos integrados para cada amostra
 - Controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC)
 - Controlo endógeno do ABL 1
- Tempo até aos resultados de **aproximadamente 2,5 horas** (inclui o tempo de intervenção)
- O sistema de cartucho fechado minimiza o risco de contaminação
- Resultados a pedido
- Acesso aleatório

Utilização prevista

- O teste Xpert® BCR-ABL Ultra p190 é um teste de diagnóstico *in vitro* para utilização no sistema GeneXpert® Dx da Cepheid, para a quantificação dos transcritos de ARNm de BCR-ABL1 p190 e ABL1 em amostras de sangue periférico de doentes diagnosticados com leucemia mieloide crónica (LMC) e leucemia linfoblástica aguda (LLA) positivas para o cromossoma Philadelphia (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] que expressem o transcrito de fusão BCR-ABL1 tipo e1a2. O teste utiliza a transcrição reversa/reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR) quantitativa, automatizada, que se destina a medir o rácio percentual de ARNm do BCR-ABL1 p190 versus ARNm do ABL1 em doentes com LMC ou LLA positivos para t(9;22) durante a monitorização do tratamento.
- O teste não monitoriza outros transcritos de fusão resultantes de t(9;22) e não se destina ao diagnóstico de LMC ou LLA.

Utilizador/ambiente previsto

- O teste Xpert® BCR-ABL Ultra p190 destina-se a ser utilizado por utilizadores com formação em contexto de laboratório.

Alvos

- O Xpert® BCR-ABL Ultra p190 é um teste automatizado para a quantificação do transcrito BCR-ABL1 p190 sob a forma do rácio de BCR-ABL1 p190/ABL1.
- Os transcritos de ARNm de BCR-ABL1 p190 e ABL1 em amostras de sangue periférico de doentes diagnosticados com leucemia mieloide crónica (LMC) e leucemia linfoblástica aguda (LLA) positivas para [t(9;22)(q34;q11)] que expressem o transcrito de fusão BCR-ABL1 tipo e1a2.

Requisitos do Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

Sistemas GeneXpert[®]

- Software GeneXpert Dx **v6.2** ou posterior

Kits de teste

- GXBCRABLP190-CE-10

Colheita de amostras

- Sangue total

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Tubos com EDTA
- Impressora
- Agitador vortex
- Microcentrífuga (mínimo de 1000 x g)
- Pipetas e pipetas com filtro para aerossóis
- Tubos cónicos de 50 ml
- Etanol absoluto de grau reagente

Outros materiais

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

Revisão das boas práticas de laboratório

Equipamento de proteção individual (EPI)

- Usar batas limpas, usar óculos de proteção e luvas
- Trocar de luvas entre processamentos de amostras

Conservação de amostras e kits

- Armazenar as amostras longe do kit para prevenir a contaminação



Área da bancada de laboratório

- Limpar as superfícies de trabalho em intervalos regulares com:
 - ✓ Lixívia de uso doméstico com uma diluição de 1:10*
 - ✓ Solução de etanol a 70%
- Depois de limpar, assegurar-se de que as superfícies de trabalho estão secas

Equipamento

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

*A concentração de cloro ativo final deve ser de 0,5%, independentemente da concentração da lixívia doméstica usada no seu país.

Conservação e manuseamento do kit

Conteúdo do kit Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Número de catálogo **GXBCRABLP190-CE-10**

Cartuchos* por kit 10

Frascos de reagentes
(10 de cada)

Proteinase K (PK)
Reagente de lise (LY)
Reagente de lavagem (1)

CD do kit

Ficheiro de definição do teste (ADF) do
Xpert® BCR-ABL Ultra p190
Instruções de importação do
Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Instruções de utilização (PDF)

Armazenamento

2 °C–8 °C



* Os cartuchos contêm substâncias químicas perigosas — consulte as Instruções de utilização (IFU) e a ficha de dados de segurança para obter informação mais detalhada.

Advertências e precauções

- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- 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
 - esteja fora do prazo de validade
- Não reutilize pipetas

Advertências e precauções para a eliminação de resíduos

- As amostras biológicas, os dispositivos de transferência 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 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).
- Tome nota dos seguintes dados: Os cartuchos usados podem conter materiais potencialmente infecciosos, bem como alvos de PCR altamente amplificados. Não abra nem tente alterar qualquer parte do cartucho para eliminação.



Limitações do Xpert® BCR-ABL Ultra p190

- O produto destina-se apenas ao diagnóstico *in vitro*.
- O teste não se destina à utilização com calibradores externos.
- O teste não está indicado para determinar a descontinuação do tratamento com TKI nem para monitorização após a descontinuação.
- O desempenho do teste Xpert® BCR-ABL Ultra p190 foi avaliado utilizando apenas os procedimentos fornecidos nestas instruções de utilização. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- Este produto foi validado para sangue colhido em tubos com EDTA.
- Não utilizar a heparina como anticoagulante, porque pode inibir a reação de PCR.
- Amostras com citrato de sódio (citrato de Na), camada leucoplaquetária e medula óssea não foram validadas.

Limitações do Xpert® BCR-ABL Ultra p190 (continuação)

- Podem ocorrer resultados de teste erróneos devido a incorreções na colheita, no manuseamento ou na conservação das amostras, ou devido à troca de amostras. Para se evitarem resultados erróneos, é necessário cumprir cuidadosamente as Instruções de utilização.
- O teste Xpert® BCR-ABL Ultra p190 destina-se apenas à deteção do transcrito de fusão e1a2 de BCR-ABL p190. A capacidade de detetar outros transcritos de fusão não foi avaliada para além do descrito nestas instruções de utilização. O teste não deteta breakpoints major ou micro, microdeleções ou mutações.
- O Xpert BCR-ABL Ultra p190 não se destina a detetar as translocações e13a2/b2a2 e e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) ou outras translocações menores que possam estar presentes numa amostra de sangue periférico de um doente com leucemia.
- No caso de amostras com contagens de glóbulos brancos muito elevadas (superiores a 30 milhões de células/ml), o Xpert BCR-ABL Ultra p190 pode apresentar um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** (Tipo 2) devido a níveis excessivos de BCR-ABL p190 ou ABL na amostra. Consulte a Tabela 2 nas Instruções de utilização para obter mais informações.

Limitações do Xpert® BCR-ABL Ultra p190 (continuação)

- Algumas amostras com níveis muito baixos de transcritos de ABL ou contagens de glóbulos brancos inferiores a 150 000 células/ml podem ser apresentadas com resultado **INVÁLIDO (INVALID)** (Tipo 1). Um resultado indeterminado não exclui a presença de níveis baixos de células leucémicas no doente.
- O transcrito p230 de LMC com breakpoint micro e19a2 pode apresentar um resultado positivo para BCR-ABL abaixo do LoD do teste (0,0065%) quando testado em níveis de alvo elevados (> 3,52 logs acima do LoD).
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do primer ou da sonda podem afetar a deteção de variantes novas ou desconhecidas e podem originar um resultado falso negativo.
- Os resultados de alguns doentes com níveis muito baixos de transcrito BCR-ABL1 (ou seja, abaixo do LoD de 0,0065%) podem ser apresentados como **BCR-ABL p190 NÃO DETETADO [Transcrito ABL suficiente] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Por isso, um resultado não detetado não exclui a presença de níveis baixos de células leucémicas no doente.
- O teste está validado para a utilização no sistema GeneXpert Dx (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

Colheita, armazenamento e transporte de amostras



Transporte e armazenamento de amostras

As amostras de sangue total devem ser recolhidas em tubos com EDTA de acordo com as diretrizes da sua instituição.

Tipo de amostra

Armazenamento

Amostra de sangue total

2 °C-8 °C para \leq 72 horas

Preparação do cartucho

Preparação do cartucho Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Preparar uma amostra com contagem de glóbulos brancos desconhecida ou amostras com menos de 30 milhões de glóbulos brancos/ml

Preparação de lisado e cartucho

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NPM1 Mutation

Consulte as instruções detalhadas, as precauções e as indicações de atenção no folheto informativo.

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

Assistência técnica da Cepheid
Escritório dos EUA
+1 (888) 838-3222, Opção 2
techsupport@cepheid.com

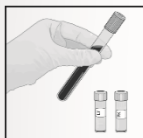
Escritório europeu +33 563 82 53 19



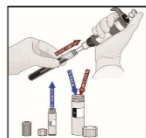
20 minutos antes de iniciar o procedimento, deixe os seguintes itens atingirem a temperatura ambiente (20 °C - 30 °C)

- amostra de sangue
- cartucho
- reagentes de preparação da amostra

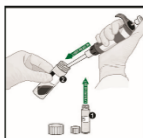
- 1 Remova o sangue total em EDTA e os reagentes de preparação da amostra do frigorífico. Coloque o sangue em EDTA no oscilador ou inverta 8 vezes antes de efetuar a amostragem.



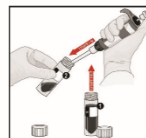
- 2 Centrifugue brevemente o reagente PK. Adicione 100 µl de reagente PK num tubo cónico de 50 ml. Em seguida, adicione 4 ml de sangue total em EDTA bem misturado ao mesmo tubo cónico de 50 ml. Agite em vórtex durante 3 seg e incube durante 1 min à TA.



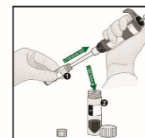
- 3 Adicione 2.5 ml do reagente de lise (LY) ao mesmo tubo, agite em vórtex por 10 seg e incube por 5 min à TA. Agite novamente em vórtex por 10 seg e incube uma segunda vez durante 5 min. Bata suavemente 10x no tubo para misturar.



- 4 Transfira 1 ml do lisado preparado para um novo tubo cónico de 50 ml. Guarde o lisado restante para repelir o teste, se necessário.



- 5 Adicione 1.5 ml do reagente de lise (LY) ao novo tubo cónico que contém o lisado anteriormente preparado. Agite em vórtex durante 10 seg e incube durante 10 min à TA.



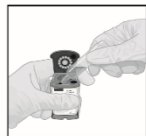
- 6 Adicione 2 ml de etanol absoluto grau reagente ao mesmo tubo cónico. Agite em vórtex durante 10 seg e reserve. Elimine o remanescente dos reagentes PK ou LY.



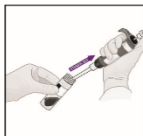
- 7 Abra a tampa do cartucho de teste Xpert.



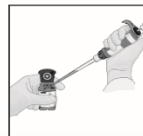
- 8 Transfira a totalidade da ampola do reagente de lavagem para a câmara de lavagem 1 (com a pequena abertura).



- 9 Pipete a totalidade do lisado preparado final do tubo cónico.



- 10 Pipete a totalidade da amostra preparada (~4.5 ml) para a câmara de amostras.



- 11 Feche a tampa do cartucho Xpert.



- 12 Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.



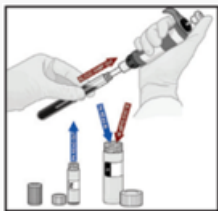
Preparação do cartucho Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Preparar uma amostra com contagem de glóbulos brancos superior a 30 milhões de células/ml

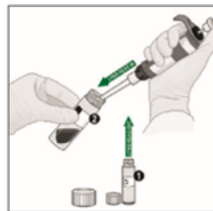
1. Certifique-se de que a amostra de sangue é bem misturada, invertendo 8 vezes o tubo de colheita de sangue com EDTA imediatamente antes da pipetagem.



2. No fundo de um novo tubo cônico de 50 ml, adicione 100 µl de PK (Proteinase K). **Adicione 50 µl de amostra de sangue.** Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 3 segundos. Incube à temperatura ambiente durante 1 minuto.



3. Ao mesmo tubo adicione 2,5 ml de reagente de lise (LY). Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos. Incube à temperatura ambiente durante 5 min. Repita o passo de vortex e incubação com os mesmos tempos.



4. Ao mesmo tubo cônico, adicione 2 ml de etanol absoluto de grau reagente. Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos. Deixe em repouso, à temperatura ambiente. Elimine o remanescente dos reagentes PK ou LY.



5. Abra a tampa do cartucho.

6. Transfira a totalidade do conteúdo da ampola do reagente de lavagem para a câmara 1.

7. Pipete todo o conteúdo da amostra preparada para a câmara de amostra (abertura grande)

8. Feche a tampa do cartucho e inicie o teste.

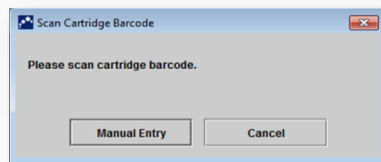
Executar um teste no GeneXpert® Dx

1 Criar um teste.



Inicie o teste **dentro de 1 hora** após a adição da amostra ao cartucho.

2 Ler o código de barras para obter a ID do doente (Patient ID) e/ou a ID da amostra (Sample ID).



Não clique em Entrada manual (Manual Entry) nem em Cancelar (Cancel).

3 Ler o cartucho.



Executar um teste no GeneXpert® Dx (continuação)

4 Preencha os campos, conforme necessário.

5 O teste Xpert® BCR-ABL p190 é selecionado automaticamente.

6 O módulo é selecionado automaticamente.

7 Clique em Iniciar teste (Start Test).

8 Irá piscar uma luz verde 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 BCR-ABL p190

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



Protocolo automatizado do Xpert® BCR-ABL Ultra p190



Controlos de qualidade

Estratégia de controlo do Xpert® BCR-ABL p190

CONTROL

- Controlos de qualidade do Xpert® BCR-ABL p190
 - Cada cartucho Xpert constitui um dispositivo de teste autónomo
 - A Cepheid concebeu métodos moleculares específicos de modo a incluir controlos internos que permitem ao sistema detetar modos de falha específicos em cada cartucho. Controlos internos integrados para cada amostra
 - Controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC)
 - Controlo endógeno do ABL 1

Interpretação dos resultados

Resultados quantitativos

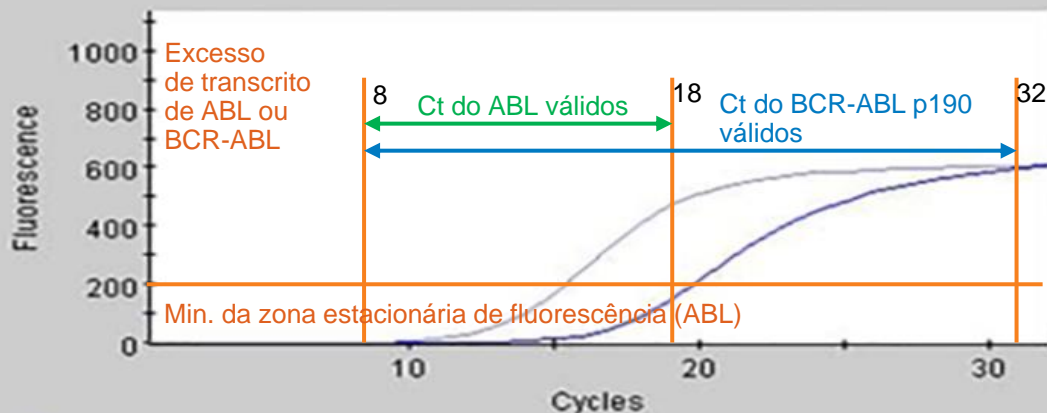
- Os sistemas GeneXpert® calculam os resultados automaticamente, com base nos valores do limiar do ciclo (Ct) gerados pelo teste e nos parâmetros específicos do lote atribuídos durante o fabrico. O software aplica o algoritmo seguinte, sendo o valor ΔCt (variação de Ct) obtido da diferença entre o Ct de ABL e o Ct de BCR-ABL p190, e a eficiência (E) e o fator de escala (SF) são valores específicos do lote.
 - Rácio percentual = eficiência^(ΔCt) x fator de escala x 100
- Os valores da eficiência e do fator de escala calibram a quantificação dos transcritos BCR-ABL p190 (e1a2) e ABL1 em número de cópias com base nos padrões primários de ARN transcrito *in vitro* (IVT-ARN) de BCR-ABL p190 e ABL1 sintéticos.
- Os valores da eficiência e do fator de escala estão incorporados no código de barras de cada cartucho. As fichas de dados das especificações do lote estão disponíveis através da Assistência Técnica da Cepheid.

Valores de Ct e fluorescência válidos

Test Result

BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%]

For In Vitro Diagnostic Use Only



Legend

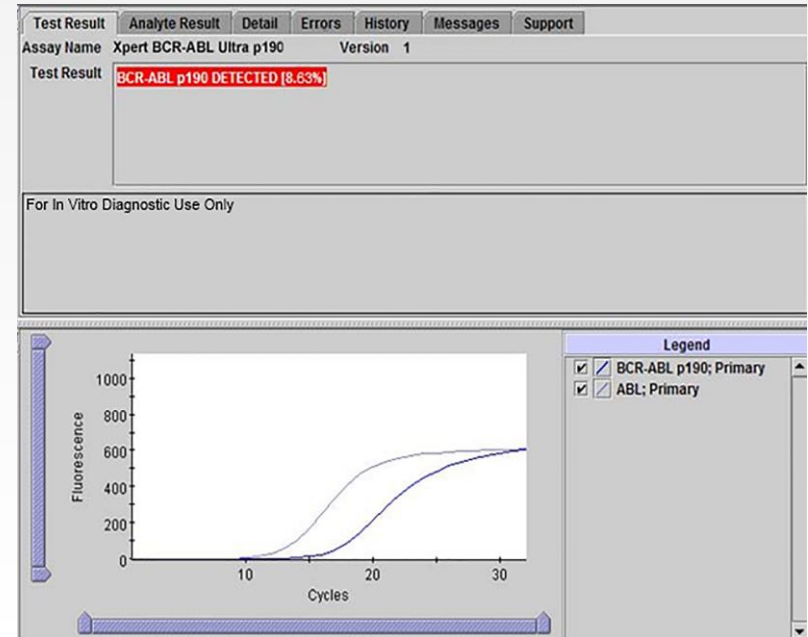
- BCR-ABL p190; Primary
- ABL; Primary

Resultados de BCR-ABL p190 Detetado (BCR-ABL p190 Detected)

- O controlo de verificação da sonda (PCC) tem de ser APROVADO (PASS)
- O controlo endógeno ABL tem de ser APROVADO (PASS):
 - Limiar de ciclo (Ct) dentro do intervalo válido de $8 \leq Ct \leq 18$,
 - e endpoint acima da definição de limiar
- BCR-ABL p190 tem de ser Detetado (Detected):
 - Limiar de ciclo (Ct) dentro do intervalo válido de $8 \leq Ct \leq 32$
 - E endpoint acima do limiar

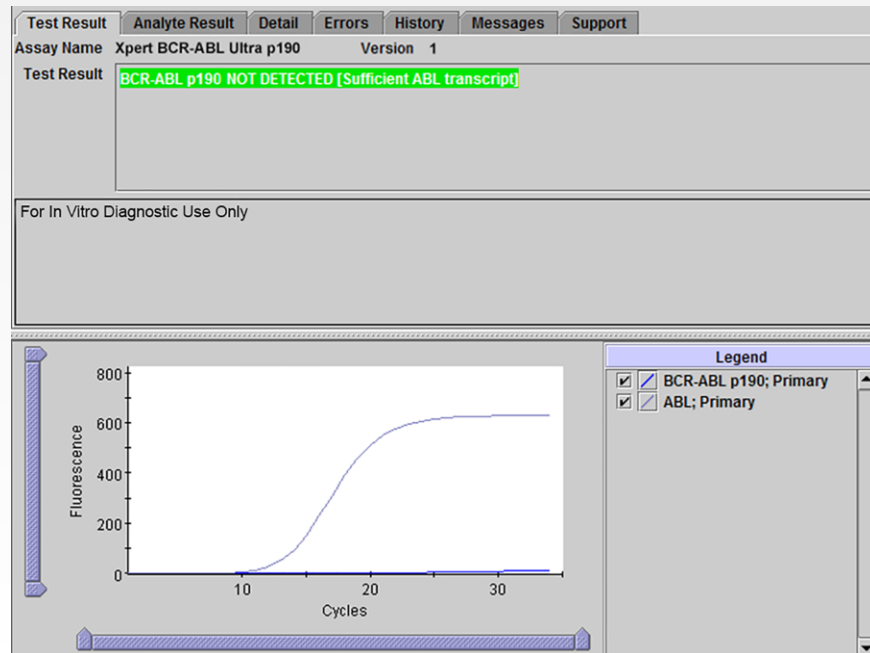
Resultados de BCR-ABL p190 Detetado (BCR-ABL p190 Detected)

- Resultado do teste:
 - BCR-ABL p190 DETETADO [#,#%]
(BCR-ABL p190 DETECTED [#,#%])
 - BCR-ABL p190 DETETADO
[abaixo do LoD, <0,0065%]
(BCR-ABL p190 DETECTED
[Below LoD, <0,0065%])
 - BCR-ABL p190 DETETADO
[acima do LoQ superior]
(BCR-ABL p190 DETECTED
[Above upper LoQ])
- Consulte as instruções de utilização para obter exemplos adicionais de resultados detetados (detected)



BCR-ABL p190 NÃO DETETADO (BCR-ABL p190 NOT DETECTED)

- O controlo de verificação da sonda (PCC) tem de ser APROVADO (PASS)
- O controlo endógeno ABL tem de ser APROVADO (PASS):
 - Limiar de ciclo (Ct) dentro do intervalo válido de $8 \leq Ct \leq 18$,
 - e endpoint acima da definição de limiar
- O BCR-ABL p190 deve ser NÃO Detetado (BCR-ABL p190 must be NOT Detected):
 - Sem limiar de ciclo (Ct) $Ct = 0$, ou
 - Endpoint inferior à definição de limiar
- Resultado do teste:
- BCR-ABL p190 NÃO DETETADO [Transcrito ABL suficiente] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])



Resolução de problemas

Fatores que afetam negativamente os resultados

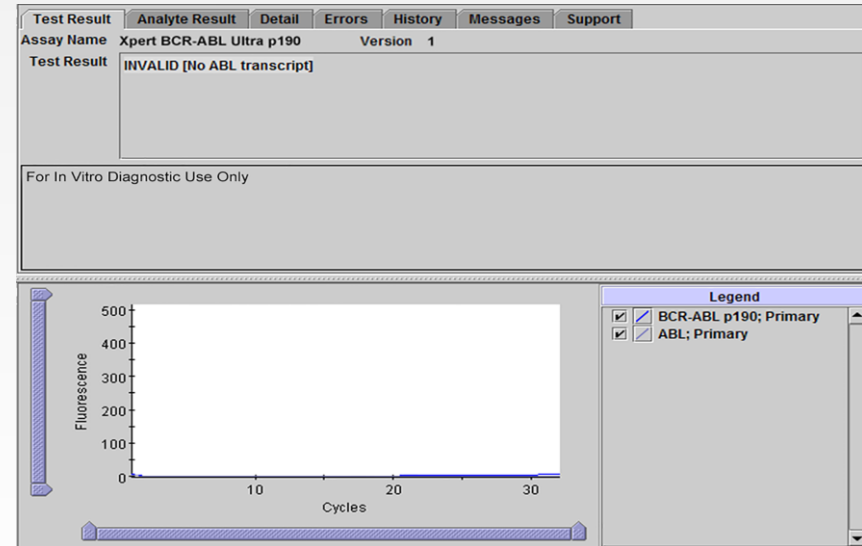
- Colheita incorreta da amostra.
 - O desempenho deste teste não foi avaliado com outros tipos de amostras.
- Estão presentes números inadequados de organismos na amostra.
- Transporte ou armazenamento incorretos da amostra colhida.
 - As condições de transporte e armazenamento são específicas para cada amostra.
 - Consultar as instruções de utilização para obter as instruções de manuseamento correto.
- Procedimento de teste incorreto.
 - A modificação dos procedimentos de análise pode alterar o desempenho do teste.
 - Para evitar resultados falsos, é necessário cumprir cuidadosamente as instruções de utilização.

Resultado de BCR-ABL p190 INVÁLIDO (BCR-ABL p190 INVALID)

- O controlo de verificação da sonda (PCC) tem de ser APROVADO (PASS)
- O controlo endógeno ABL é REPROVADO/APROVADO (FAIL/PASS)
 - Limiar de ciclo (Ct) fora do intervalo válido de $8 \leq Ct \leq 18$, ou
 - Endpoint abaixo da definição de limiar
- BCR-ABL p190 INVÁLIDO (BCR-ABL p190 INVALID)
 - Limiar de ciclo (Ct) fora do intervalo válido de $8 \leq Ct \leq 32$

Resultado de BCR-ABL p190 INVÁLIDO (BCR-ABL p190 INVALID)

- Resultados do teste
 - INVÁLIDO [Sem transcrito ABL]
(INVALID [No ABL transcript])
 - INVÁLIDO [Transcrito ABL insuficiente]
(INVALID [Insufficient ABL transcript])
 - INVÁLIDO [Transcritos BCR-ABL p190 e ABL demasiado elevados] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])
 - INVÁLIDO [Transcrito BCR-ABL p190 demasiado elevado] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])
 - INVÁLIDO [Transcrito ABL demasiado elevado] (INVALID [Too high ABL transcript])
- Consulte as instruções de utilização para obter exemplos adicionais de resultados INVÁLIDOS (INVALID)



Resultado de Erro (Error)

Não é possível determinar o nível de transcrito BCR-ABL

- BCR-ABL Sem Resultado (No Result)
- ABL Sem Resultado (No Result)
- O controlo de verificação da sonda foi REPROVADO (FAIL)

Causas possíveis/solução

- **Erro 2008 (Error 2008)** – A pressão excedeu o limite
- Verifique a qualidade da amostra
- Verifique se existe uma contagem de WBC excessivamente elevada
- Repetir o procedimento do teste tipo 2

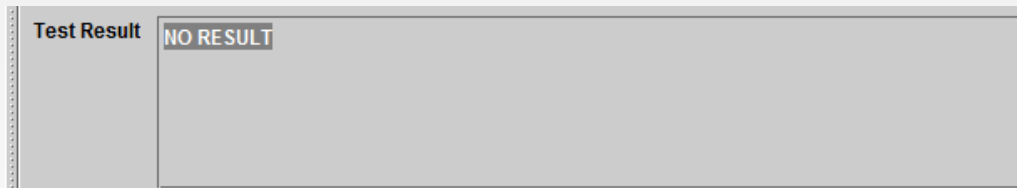
Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Messages	Support
Troubleshoot						
#	Description	Detail				
1	Operation terminated	Error 2008: Syringe pressure reading of 100.0 PSI exceeds the protocol limit of 100.0 PSI				

- **Erro 5006, 5007, 5008 e 5009 (Error 5006, 5007, 5008 and 5009)** – Falha de verificação da sonda
- Repetir o procedimento do teste tipo 1

*Consultar o guia de resolução de problemas na Tabela 2 nas Instruções de utilização

SEM RESULTADO (NO RESULT)

- Não é possível determinar o nível de transcrito BCR-ABL
 - Falha de recolha de dados
 - Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou houve uma falha de energia



*Consultar o guia de resolução de problemas na Tabela 2 nas Instruções de utilização

Motivos para repetir o teste

- INVÁLIDO (Tipo 1) [INVALID (Type 1)] ou ERRO (ERROR)
 - Devido ao limiar de ciclo (Ct) do ABL ter excedido o valor de corte máximo válido para Ct (Ct>18) ou o endpoint estar abaixo do limiar definido (<200).
- INVÁLIDO (Tipo 2) [INVALID (Type 2)] ou ERRO (Código 2008) [ERROR (Code 2008)]:
 - Repita o teste das amostras com níveis de transcrito de BCR-ABL p190 e/ou ABL abaixo do valor de corte mínimo válido para Ct (Ct<8) e/ou quando o limite de pressão é excedido.
- SEM RESULTADO (NO RESULT):
 - Devido a falha de recolha de dados.

Procedimentos de repetição do teste

Procedimentos de repetição de teste

(Consultar a Tabela 2. Guia de resolução de problemas, nas Instruções de utilização)

- INVÁLIDO (INVALID)

- Falha do controlo endógeno de ABL devido à má qualidade da amostra, inibição da RT-PCR, se Ct do ABL > 18 e/ou endpoint < 200 => Procedimento de repetição de teste **Tipo 1**
- Não é possível determinar o nível de transcrito BCR-ABL porque a amostra contém excesso de transcritos de BCR-ABL e/ou ABL (Ct < 8) => Procedimento de repetição de teste **Tipo 2**

- ERRO (ERROR)

- ERRO (Código 2008) A pressão excedeu o limite => **Tipo 2**
- ERRO (Códigos 5006, 5007, 5008 e 5009) Falha de verificação da sonda => **Tipo 1**

- SEM RESULTADO (NO RESULT)

- Falha de recolha de dados. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou houve falha de energia => **Tipo 1**

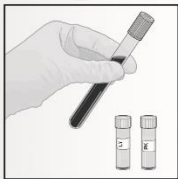
Repetição do teste a partir do tubo de colheita de sangue

(se estiver disponível um volume de amostra de sangue suficiente)

(Procedimento de repetição do teste Tipo 1)

Começar aqui

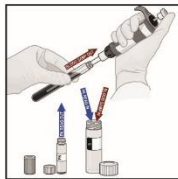
- 1 Remova o sangue total em EDTA e os reagentes de preparação da amostra do frigorífico. Coloque o sangue em EDTA no oscilador ou inverta 8 vezes antes de efetuar a amostragem.



- 7 Abra a tampa do cartucho de teste Xpert.



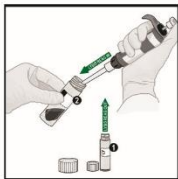
- 2 Centrifugue brevemente o reagente PK. Adicione 100 µl de reagente PK num tubo cónico de 50 ml. Em seguida, adicione 4 ml de sangue total em EDTA bem misturado ao mesmo tubo cónico de 50 ml. Agite em vórtex durante 3 seg e incube durante 1 min à TA.



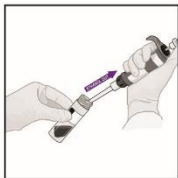
- 8 Transfira a totalidade da ampola do reagente de lavagem para a câmara de reagente de lavagem 1 (com a pequena abertura).



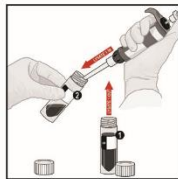
- 3 Adicione 2,5 ml do reagente de lise (LY) ao mesmo tubo, agite em vórtex por 10 seg e incube por 5 min à TA. Agite novamente em vórtex por 10 seg e incube uma segunda vez durante 5 min. Bata suavemente 10x no tubo para misturar.



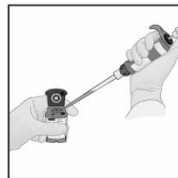
- 9 Pipete a totalidade do lisado preparado final do tubo cónico.



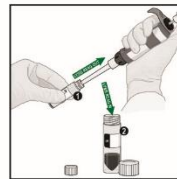
- 4 Transfira 1 ml do lisado preparado para um novo tubo cónico de 50 ml. Guarde o lisado restante para repetir o teste, se necessário.



- 10 Pipete a totalidade da amostra preparada (~4,5 ml) para a câmara de amostras.



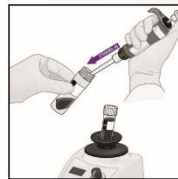
- 5 Adicione 1,5 ml do reagente de lise (LY) ao novo tubo cónico que contém o lisado anteriormente preparado. Agite em vórtex durante 10 seg e incube durante 10 min à TA.



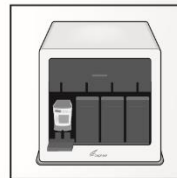
- 11 Feche a tampa do cartucho Xpert.



- 6 Adicione 2 ml de etanol absoluto grau reagente ao mesmo tubo cónico. Agite em vórtex durante 10 seg e reserve. Elimine o remanescente dos reagentes PK ou LY.



- 12 Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.



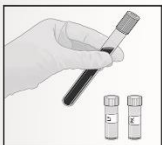
Repetição do teste a partir de lisado

(se o volume da amostra de sangue for *insuficiente*)

(Procedimento de repetição do teste Tipo 1)

- Deixe o lisado descongelar e atingir a temperatura ambiente antes da utilização
- Certifique-se de que o lisado está bem misturado agitando continuamente a amostra com um agitador vortex na definição máxima durante 10 segundos e deixando repousar durante 3 minutos para assentar as bolhas. Então, **comece aqui**

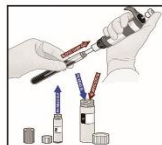
- 1 Remova o sangue total em EDTA e os reagentes de preparação da amostra do frigorífico. Coloque o sangue em EDTA no oscilador ou inverta 8 vezes antes de efetuar a amostragem.



- 7 Abra a tampa do cartucho de teste Xpert.



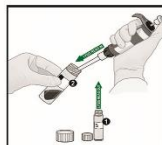
- 2 Centrifugue brevemente o reagente PK. Adicione 100 µl de reagente PK num tubo cónico de 50 ml. Em seguida, adicione 4 ml de sangue total em EDTA bem misturado ao mesmo tubo cónico de 50 ml. Agite em vórtex durante 3 seg e incube durante 1 min à TA.



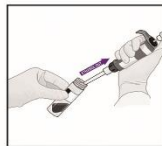
- 8 Transfira a totalidade da ampola do reagente de lavagem para a câmara de reagente de lavagem 1 (com a pequena abertura).



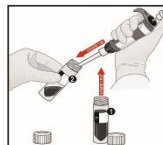
- 3 Adicione 2,5 ml do reagente de lise (LY) ao mesmo tubo, agite em vórtex por 10 seg e incube por 5 min à TA. Agite novamente em vórtex por 10 seg e incube uma segunda vez durante 5 min. Bata suavemente 10x no tubo para misturar.



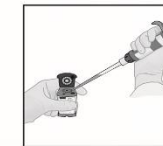
- 9 Pipete a totalidade do lisado preparado final do tubo cónico.



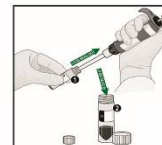
- 4 Transfira 1 ml do lisado preparado para um novo tubo cónico de 50 ml. Guarde o lisado restante para repetir o teste, se necessário.



- 10 Pipete a totalidade da amostra preparada (~4,5 ml) para a câmara de amostras.



- 5 Adicione 1,5 ml do reagente de lise (LY) ao novo tubo cónico que contém o lisado anteriormente preparado. Agite em vórtex durante 10 seg e incube durante 10 min à TA.



- 11 Feche a tampa do cartucho Xpert.



- 6 Adicione 2 ml de etanol absoluto grau reagente ao mesmo tubo cónico. Agite em vórtex durante 10 seg e reserve. Elimine o remanescente dos reagentes PK ou LY.



- 12 Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.



Repetição do teste a partir de sangue

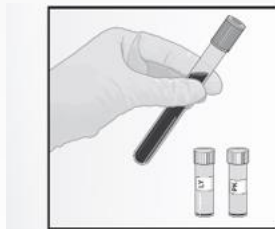
(Procedimento de repetição de teste Tipo 2)

1. Certifique-se de que a amostra de sangue é bem misturada, invertendo 8 vezes o tubo de colheita de sangue com EDTA imediatamente antes da pipetagem.

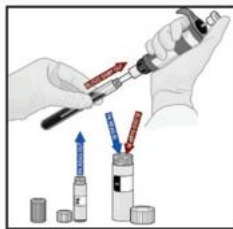
2. No fundo de um novo tubo cônico de 50 ml, adicione 100 µl de PK (Proteinase K). **Adicione 50 µl de amostra de sangue.** Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 3 segundos. Incube à temperatura ambiente durante 1 minuto.

3. Ao mesmo tubo adicione 2,5 ml de reagente de lise (LY). Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos. Incube à temperatura ambiente durante 5 min. Repita o passo de vortex e incubação com os mesmos tempos.

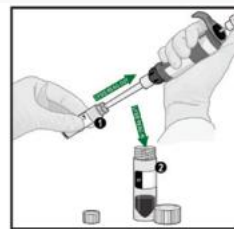
4. Ao mesmo tubo cônico, adicione 2 ml de etanol absoluto de grau reagente. Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos. Deixe em repouso, à temperatura ambiente.



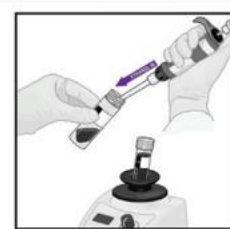
5. Abra a tampa do cartucho.



6. Transfira a totalidade do conteúdo da ampola do reagente de lavagem para a câmara 1.



7. Pipete todo o conteúdo da amostra preparada para a câmara de amostra (abertura grande).



8. Feche a tampa do cartucho e inicie o teste.

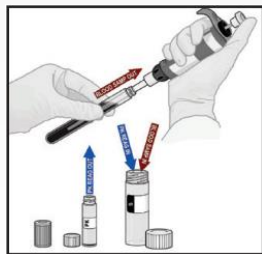
Repetir o teste a partir do lisado

(Procedimento de repetição de teste Tipo 2)

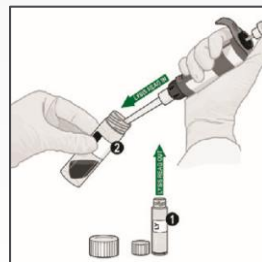
1. Certifique-se de que o lisado está bem misturado agitando a amostra num agitador vortex, na definição máxima, continuamente durante 10 segundos e deixando repousar durante 3 minutos para assentar as bolhas.



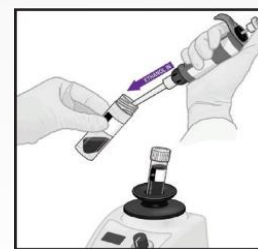
2. No fundo de um tubo cónico de 50 ml novo, adicione 100 µl de PK (Proteinase K). Adicione 80 µl de lisado. Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 3 segundos. Incube à temperatura ambiente durante 1 minuto.



3. Ao mesmo tubo adicione 2,5 ml de reagente de lise (LY). Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos. Incube à temperatura ambiente durante 5 min. Repita o passo de vortex e incubação com os mesmos tempos.



4. Ao mesmo tubo cónico, adicione 2 ml de etanol absoluto de grau reagente. Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos. Deixe em repouso, à temperatura ambiente.



5. Abra a tampa do cartucho. Transfira a totalidade do conteúdo da ampola do reagente de lavagem para a câmara 1.

6. Pipete todo o conteúdo da amostra preparada.

7. Transfira-a para a câmara da amostra (abertura larga).

8. Feche a tampa do cartucho Xpert®.

9. Inicie o teste no prazo indicado no folheto informativo.

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
- Registe a sua reclamação através da Internet, utilizando a seguinte hiperligação: <http://www.cepheid.com/en/support>: *Criar um caso de assistência (Create a Support Case)*



Obrigado

www.Cepheid.com