

# 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<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra p190

## Sistemas GeneXpert<sup>®</sup>

- 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<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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 detecção 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](http://www.cepheid.com) ou [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)

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

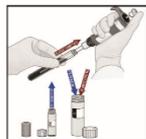
- 1 Remova o sangue total em EDTA e os reagentes de preparação da amostra do frigorífico. Coloque o sangue em EDTA no oscilador ou inverta 8 vezes antes de efetuar a amostragem.



- 7 Abra a tampa do cartucho de teste Xpert.



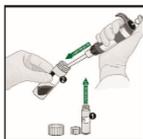
- 2 Centrifugue brevemente o reagente PK. Adicione 100 µl de reagente PK num tubo cónico de 50 ml. Em seguida, adicione 4 ml de sangue total em EDTA bem misturado ao mesmo tubo cónico de 50 ml. Agite em vórtex durante 3 seg e incube durante 1 min à TA.



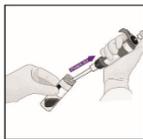
- 8 Transfira a totalidade da ampola do reagente de lavagem para a câmara de lavagem 1 (com a pequena abertura).



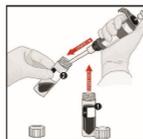
- 3 Adicione 2.5 ml do reagente de lise (LY) ao mesmo tubo, agite em vórtex por 10 seg e incube por 5 min à TA. Agite novamente em vórtex por 10 seg e incube uma segunda vez durante 5 min. Bata suavemente 10x no tubo para misturar.



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



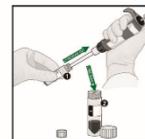
- 4 Transfira 1 ml do lisado preparado para um novo tubo cónico de 50 ml. Guarde o lisado restante para repelir o teste, se necessário.



- 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.



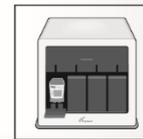
- 11 Feche a tampa do cartucho Xpert.



- 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.



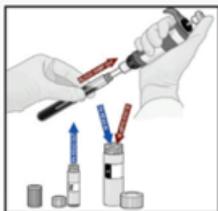
# Preparação do cartucho Xpert® BCR-ABL Ultra p190

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

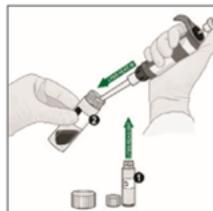
1. Certifique-se de que a amostra de sangue é bem misturada, invertendo 8 vezes o tubo de colheita de sangue com EDTA imediatamente antes da pipetagem.



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.

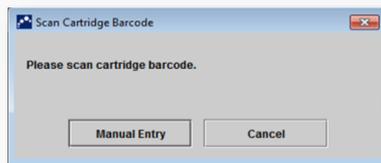
# Executar um teste no GeneXpert® Dx

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

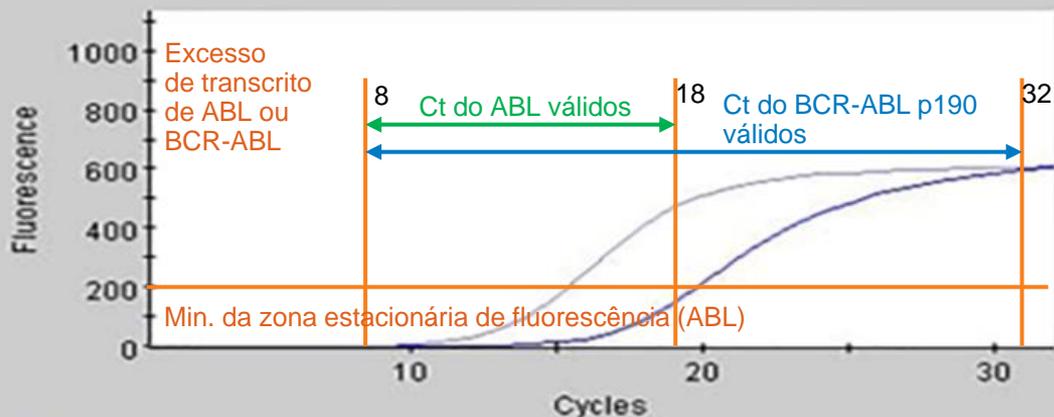
- Os sistemas GeneXpert® calculam os resultados automaticamente, com base nos valores do limiar do ciclo (Ct) gerados pelo teste e nos parâmetros específicos do lote atribuídos durante o fabrico. O software aplica o algoritmo seguinte, sendo o valor  $\Delta Ct$  (variação de Ct) obtido da diferença 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<sup>( $\Delta Ct$ )</sup> 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

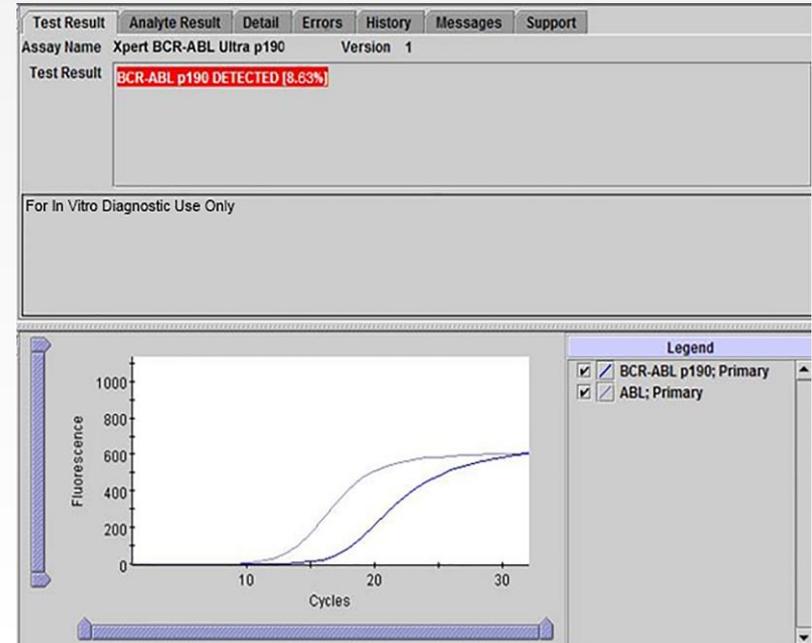
- BCR-ABL p190; Primary
- ABL; Primary

# 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

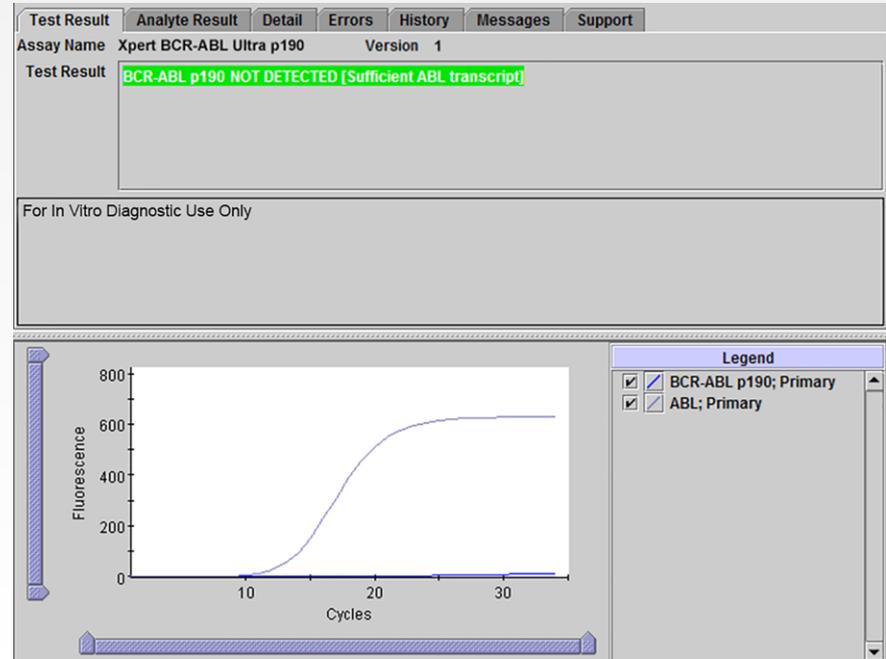
# Resultados de BCR-ABL p190 Detetado (BCR-ABL p190 Detected)

- 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)

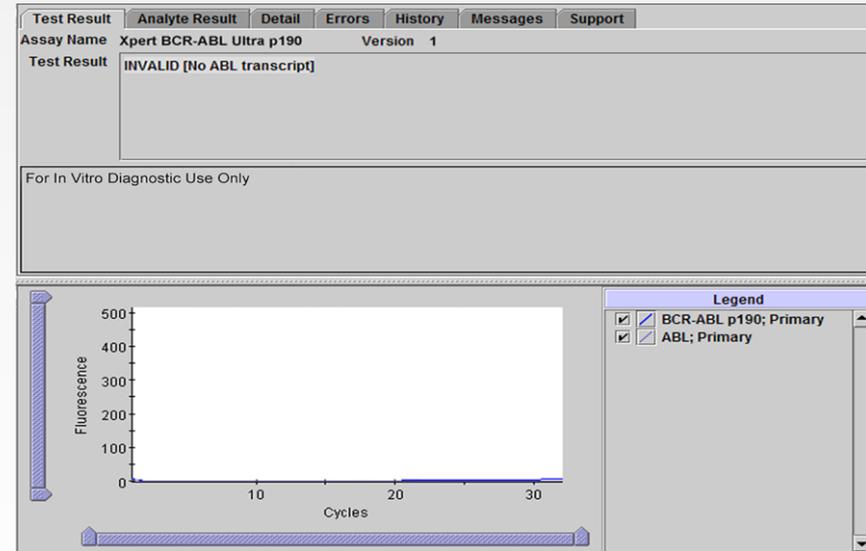
- O controlo de verificação da sonda (PCC) tem de ser APROVADO (PASS)
- O controlo endógeno ABL é REPROVADO/APROVADO (FAIL/PASS)
  - Limiar de ciclo (Ct) fora do intervalo válido de  $8 \leq Ct \leq 18$ , ou
  - Endpoint abaixo da definição de limiar
- BCR-ABL p190 INVÁLIDO (BCR-ABL p190 INVALID)
  -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

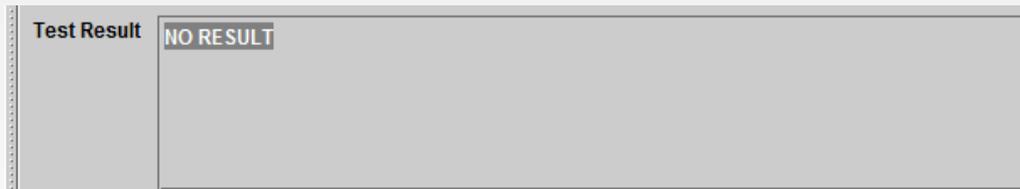
Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Messages	Support
Troubleshoot						
#	Description	Detail				
1	Operation terminated	Error 2008: Syringe pressure reading of 100.0 PSI exceeds the protocol limit of 100.0 PSI				

- **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

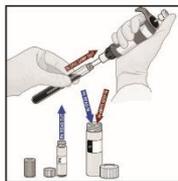
- 1 Remova o sangue total em EDTA e os reagentes de preparação da amostra do frigorífico. Coloque o sangue em EDTA no oscilador ou inverta 8 vezes antes de efetuar a amostragem.



- 7 Abra a tampa do cartucho de teste Xpert.



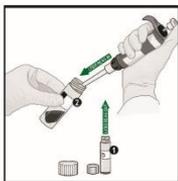
- 2 Centrifugue brevemente o reagente PK. Adicione 100 µl de reagente PK num tubo cónico de 50 ml. Em seguida, adicione 4 ml de sangue total em EDTA bem misturado ao mesmo tubo cónico de 50 ml. Agite em vórtex durante 3 seg e incube durante 1 min à TA.



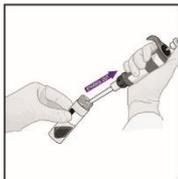
- 8 Transfira a totalidade da ampola do reagente de lavagem para a câmara de reagente de lavagem 1 (com a pequena abertura).



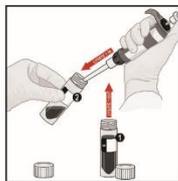
- 3 Adicione 2,5 ml do reagente de lise (LY) ao mesmo tubo, agite em vórtex por 10 seg e incube por 5 min à TA. Agite novamente em vórtex por 10 seg e incube uma segunda vez durante 5 min. Bata suavemente 10x no tubo para misturar.



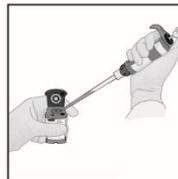
- 9 Pipete a totalidade do lisado preparado final do tubo cónico.



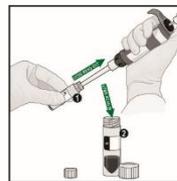
- 4 Transfira 1 ml do lisado preparado para um novo tubo cónico de 50 ml. Guarde o lisado restante para repetir o teste, se necessário.



- 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.



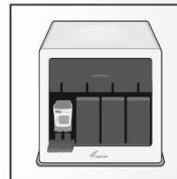
- 11 Feche a tampa do cartucho Xpert.



- 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.



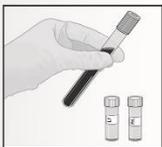
# Repetição do teste a partir de lisado

(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**

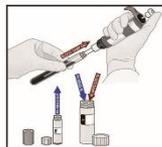
1 Remova o sangue total em EDTA e os reagentes de preparação da amostra do frigorífico. Coloque o sangue em EDTA no oscilador ou inverta 8 vezes antes de efetuar a amostragem.



7 Abra a tampa do cartucho de teste Xpert.



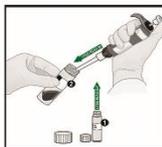
2 Centrifugue brevemente o reagente PK. Adicione 100 µl de reagente PK num tubo cónico de 50 ml. Em seguida, adicione 4 ml de sangue total em EDTA bem misturado ao mesmo tubo cónico de 50 ml. Agite em vórtex durante 3 seg e incube durante 1 min à TA.



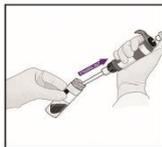
8 Transfira a totalidade da ampola do reagente de lavagem para a câmara de reagente de lavagem 1 (com a pequena abertura).



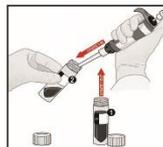
3 Adicione 2,5 ml do reagente de lise (LY) ao mesmo tubo, agite em vórtex por 10 seg e incube por 5 min à TA. Agite novamente em vórtex por 10 seg e incube uma segunda vez durante 5 min. Bata suavemente 10x no tubo para misturar.



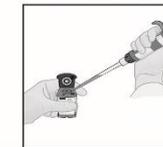
9 Pipete a totalidade do lisado preparado final do tubo cónico.



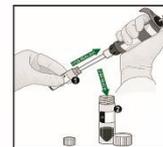
4 Transfira 1 ml do lisado preparado para um novo tubo cónico de 50 ml. Guarde o lisado restante para repetir o teste, se necessário.



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

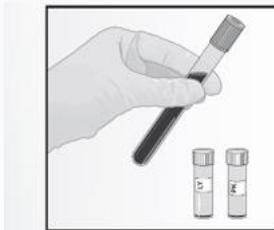
## (Procedimento de repetição de teste Tipo 2)

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.

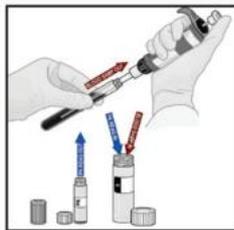
2. No fundo de um novo tubo cônico de 50 ml, adicione 100 µl de PK (Proteinase K). **Adicione 50 µl de amostra de sangue.** Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 3 segundos. Incube à temperatura ambiente durante 1 minuto.

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.

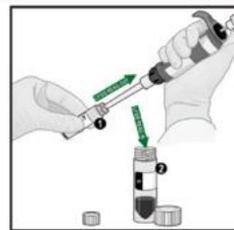
4. Ao mesmo tubo cônico, adicione 2 ml de etanol absoluto de grau reagente. Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 10 segundos. Deixe em repouso, à temperatura ambiente.



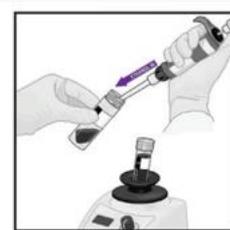
5. Abra a tampa do cartucho.



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.

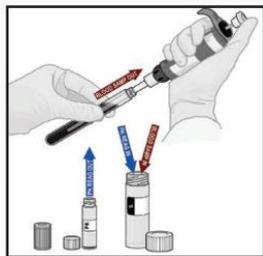
# Repetir o teste a partir do lisado

## (Procedimento de repetição de teste Tipo 2)

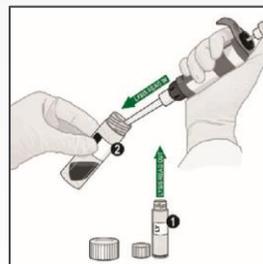
1. Certifique-se de que o lisado está bem misturado agitando a amostra num agitador vortex, na definição máxima, continuamente durante 10 segundos e deixando repousar durante 3 minutos para assentar as bolhas.



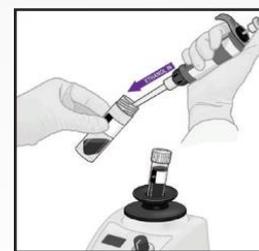
2. No fundo de um tubo cónico de 50 ml novo, adicione 100 µl de PK (Proteinase K). Adicione 80 µl de lisado. Agite a amostra num agitador vortex continuamente à velocidade máxima durante 3 segundos. Incube à temperatura ambiente durante 1 minuto.



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](http://www.Cepheid.com)