

Por meio da qualidade, dedicação e atenção aos detalhes, nossos serviços garantem a **segurança operacional** que você precisa para fornecer um **valor médico real aos seus pacientes**



## Treinamento Roche Diagnóstica

*Garante que a sua equipe possa trabalhar com confiança, segurança e eficiência, para a melhora da proficiência*

A Roche Diagnóstica cuida de seus clientes e de suas necessidades em todos os **estágios do ciclo de vida** da sua instituição de saúde, melhorando a jornada do paciente, e tornando negócios mais rentáveis e sustentáveis.

Os **Treinamentos da Roche Diagnóstica** fazem parte do ciclo de vida de **Excelência em Serviços**.



# Treinamento Módulo Completo

**Descrição:** Módulo completo de treinamento para cada equipamento.

**Conteúdo:** O treinamento completo engloba os seguintes módulos:

- Operacional Básico
- Manutenção

**Alvo:** Time laboratorial da operação principal

**Máx. participantes:** 5 por turma



# TOP

*Treinamento Operacional Padrão*



# Treinamento Módulo Completo – cobas 5800 – Virologia (HIV-1, HCV, HBV)

- Informação Geral HIV, HCV, HBV
- Resumo do Ensaio HIV-1, HCV, HBV
- Material de coleta HIV-1, HCV , HBV
- Apresentação de Reagentes e Consumíveis
- Detecção de Alvos
- Interpretação de Resultados



# Informação Geral

*cobas*<sup>®</sup> HIV-1

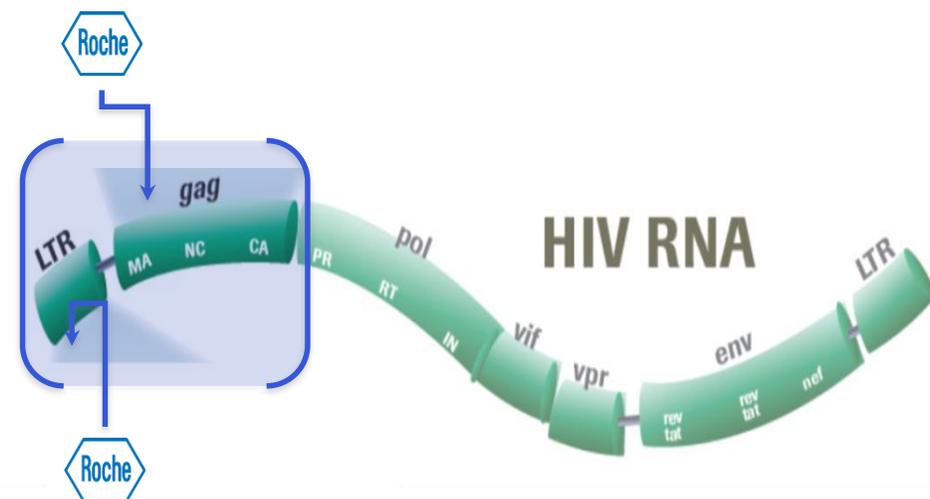
- ❑ Teste *in vitro* de amplificação do ácido nucléico para a quantificação do RNA do HIV-1 em EDTA-Plasma
  
- ❑ Intenção de uso:
  - ❑ em conjunto com a apresentação clínica e outros marcadores laboratoriais para o tratamento clínico de pacientes infectados pelo HIV-1.
  - ❑ Esse teste pode ser usado para confirmação da infecção por HIV-1 em indivíduos reativos a anticorpos.
  - ❑ Pode ser usado para avaliar o prognóstico do paciente, medindo os níveis de RNA do HIV-1 ou para monitorar os efeitos da terapia anti-retroviral ao longo do tratamento



# Informação Geral

## cobas<sup>®</sup> HIV-1

- ❑ Duas probes são usadas para quantificar, mas **NÃO** para discriminar os subtipos do HIV-1 do grupo M, do grupo N e do grupo O.
- ❑ A carga viral é quantificada utilizando um controle interno de RNA de HIV, pipetado em cada amostra durante o processamento da amostra.
- ❑ O Master Mix do **cobas<sup>®</sup> HIV-1** contém 2 probes específicas para detecção do alvo do HIV-1 e do Controle Interno.



# Resumo

## Ensaio HIV-1

Características Principais	HIV-1
Tipo de Amostra	EDTA-Plasma
Volume de Processamento da Amostra	500 µL
Sensibilidade Analítica	500 µL: 13.2 cp/mL
Range Linear	500 µL: 20.0 – 1.0E+07 cp/mL
Especificidade	100%
Genótipos	HIV-1 M (A-D, F-H, CRF01-AE, CRF02_AG), HIV-1 O, HIV-1 N



# Informação Geral

cobas<sup>®</sup> HCV

- Teste *in vitro* de amplificação do ácido nucléico para a quantificação do RNA do vírus da Hepatite C (HCV).
- Utilizado EDTA-plasma e soro de indivíduos infectados com HCV (Genótipo de 1 a 6).
- Intenção de uso:
  - Indivíduos positivos para **anticorpos** anti-HCV e **doença hepática**
  - Indivíduos com suspeita de **infecção ativa** por **HCV**
  - Indivíduos em **risco de infecção por HCV**
  - Monitorar pacientes infectados por HCV e que estão sob terapia anti-retroviral e ajudar na avaliação da resposta à terapia.



# Resumo

## Ensaio HCV

Características Principais	HCV	
Tipo de Amostra	EDTA-Plasma	Soro
Volume de Processamento da Amostra	500 µL	500 µL
Sensibilidade Analítica	500 µL: 8.46 IU/mL	500 µL: 9.61 IU/mL
Range Linear	500 µL: 15.0 – 1.0E+08 IU/mL	500 µL: 15.0 – 1.0E+08 IU/mL
Especificidade	30 UI/mL - 100.0%	20 UI/mL - 100.0%
Genótipos	HCV Genótipo 1-6	HCV Genótipo 1-6



# Informação Geral

*cobas*<sup>®</sup> *HBV*

- ❑ Teste *in vitro* de amplificação do ácido nucléico para a quantificação do DNA do vírus da Hepatite B (HBV).
- ❑ Utilizado EDTA-plasma e soro de indivíduos infectados com HBV.
- ❑ Uso destinado como auxiliar no tratamento de pacientes com infecção crônica por HBV submetidos a terapia antiviral.
- ❑ O teste pode ser usado para medir os níveis de DNA do HBV durante o tratamento e ajudar na avaliação da resposta à terapia.



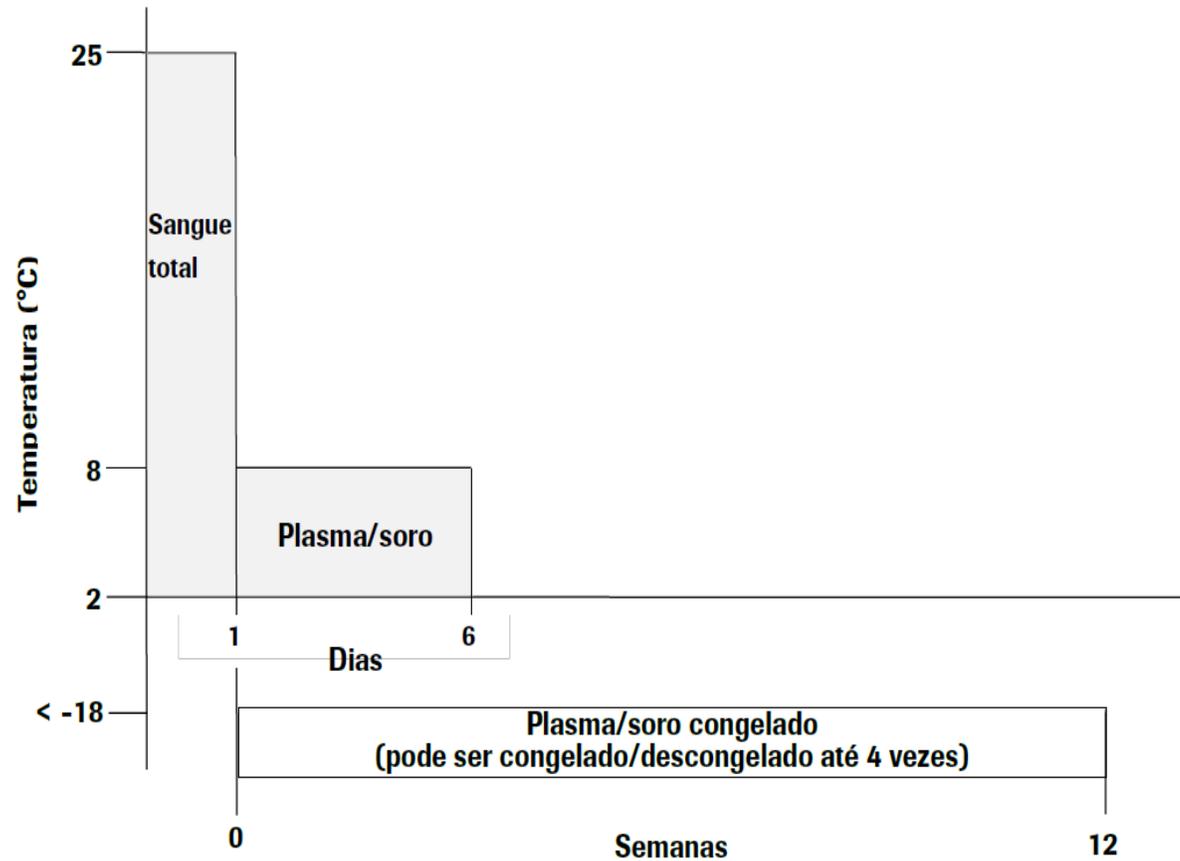
# Resumo

## Ensaio HBV

Características Principais	HBV	
Tipo de Amostra	Soro	EDTA-Plasma
Volume de Processamento da Amostra	500 µL	500 µL
Sensibilidade Analítica	500 µL: 2.4 IU/mL	500 µL: 2.7 IU/mL
Range Linear	500 µL: 10 – 1.0E+09 IU/mL	500 µL: 10 – 1.0E+09 IU/mL
Especificidade	20 UI/mL - 100.0%	20 UI/mL - 100.0%
Genótipos	HBV genótipos A, B, C, D, E, F, G e H mais mutantes pré-core predominantes	HBV genótipos A, B, C, D, E, F, G e H mais mutantes pré-core predominantes



# Material de Coleta HIV-1, HCV e HBV



## ❑ Plasma:

O sangue deve ser coletado em tubos de preparação de Plasma BD Vacutainer® PPT™ para métodos de testes de diagnóstico molecular ou em tubos estéreis utilizando EDTA como anticoagulante. Siga as instruções de coleta de amostra do fabricante do tubo.

## ❑ Soro:

O sangue deve ser coletado em tubos de preparação de Soro (SST™) para métodos de testes de diagnóstico molecular ou em tubos estéreis utilizando EDTA como anticoagulante. Siga as instruções de coleta de amostra do fabricante do tubo.



# Apresentação de Reagentes – HIV-1, HCV, HBV



	Número do Produto	Descrição	Reagente (s)	Volume (s)
<b>Genérico</b>	6997546190	cobas omni MGP Reagent (MGP)	Partículas de vidro Magnéticas(MGP)	480 testes
	6997511190	cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL)	Tampão Tris	4 x 875mL
	6997538190	cobas omni Lysis Reagent (LYS)	Lise (tiocianato de guanidina)	4 x 875mL
	6997503190	cobas omni Wash Reagent (WASH)	Tampão de Lavagem	4,2 L
<b>Ensaio Específico</b>	9040803190	KIT COBAS 5800 HIV-1 192T CE-IVD	Solução de proteinase (PASE)	22,3 mL
			Padrão de quantificação de ARN (RNA-QS)	21,2 mL
			Tampão de Eluição (EB)	21,2 mL
			Reagente Master Mix 1(MMX-R1, Cofator, Manganês)	7,5 mL
			Reagente Master Mix 2 de HIV-1 (HIV-1 MMX-R2)	9,7 mL
	9040765190	KIT COBAS 5800 HCV 192T CE-IVD	Solução de proteinase (PASE)	22,3 mL
			Padrão de quantificação de ARN (RNA-QS)	21,2 mL
			Tampão de Eluição (EB)	21,2 mL
			Reagente Master Mix 1(MMX-R1, Cofator, Manganês)	7,5 mL
			Reagente Master Mix 2 de HCV (HCV MMX-R2)	9,7 mL
	9040820190	KIT COBAS 5800 HBV 192T CE-IVD	Solução de proteinase (PASE)	22,3 mL
			Padrão de quantificação de ARN (RNA-QS)	21,2 mL
			Tampão de Eluição (EB)	21,2 mL
			Reagente Master Mix 1(MMX-R1, Cofator, Manganês)	7,5 mL
			Reagente Master Mix 2 de HBV (HBV MMX-R2)	9,7 mL
	9040773190	cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Controle Positivo Alto (HPC) Controle Positivo Baixo (LPC)	8 x 0.65 mL 8 x 0.65 mL
	9051554190	cobas® NHP Negative Control Kit	Controle Negativo	16 x 1mL

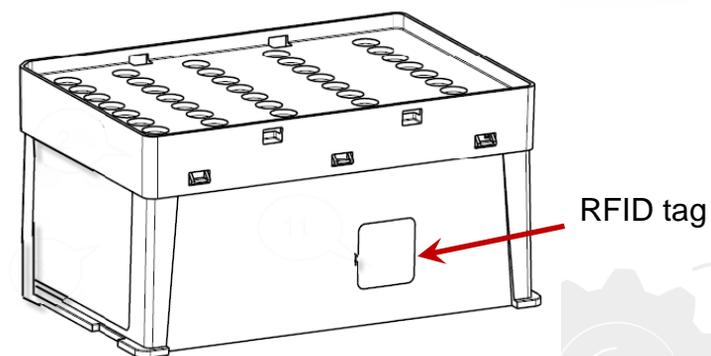
**TOP**



# cobas<sup>®</sup> HIV-1, HCV e HBV Cassetes de Reagente

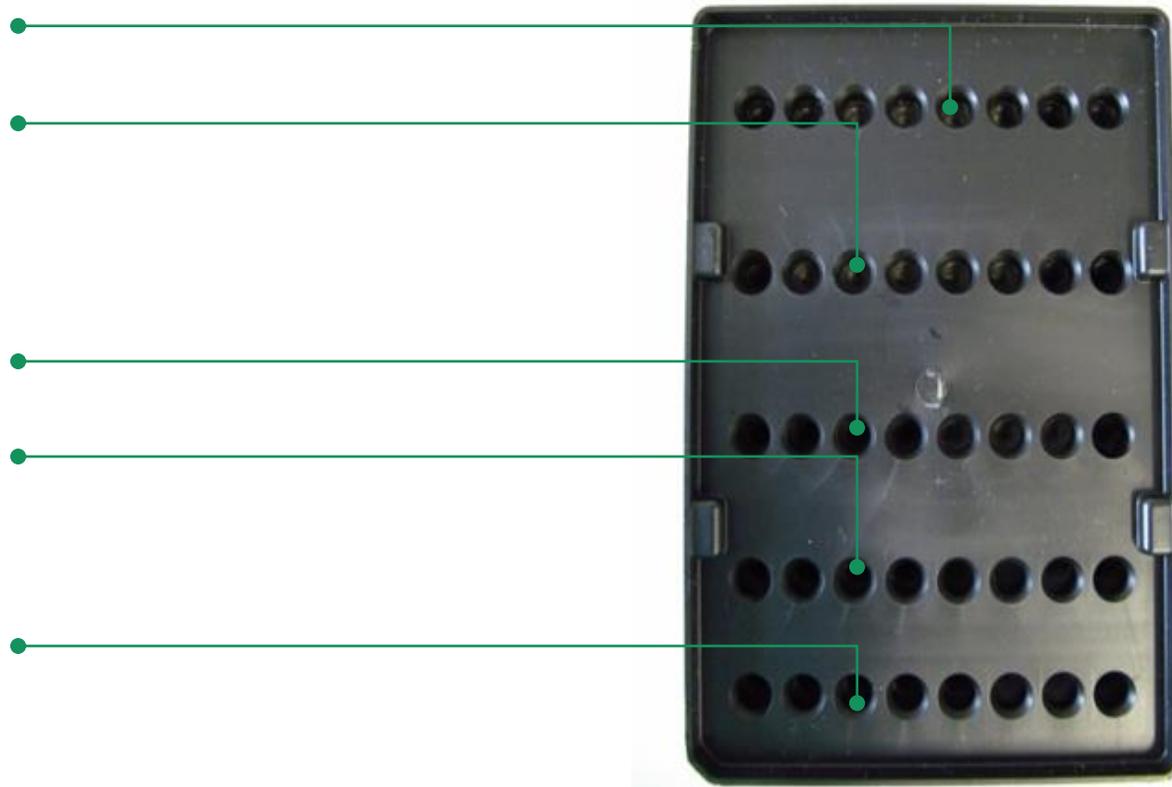
192 testes

- Pronto para uso
- Cassete individual para 192 testes
- Contém os componentes específicos do teste
- Carregado diretamente no equipamento **cobas<sup>®</sup> 5800**
- Estabilidade e uso são rastreados pelo tag de Identificação de Radiofrequência (RFID).



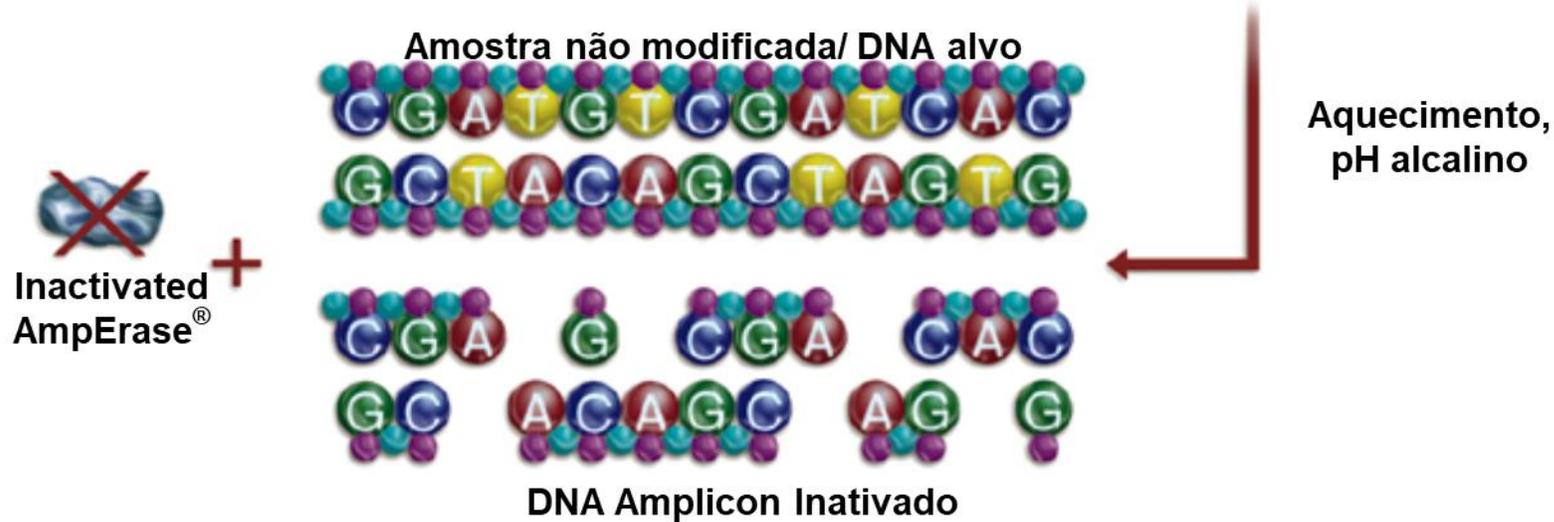
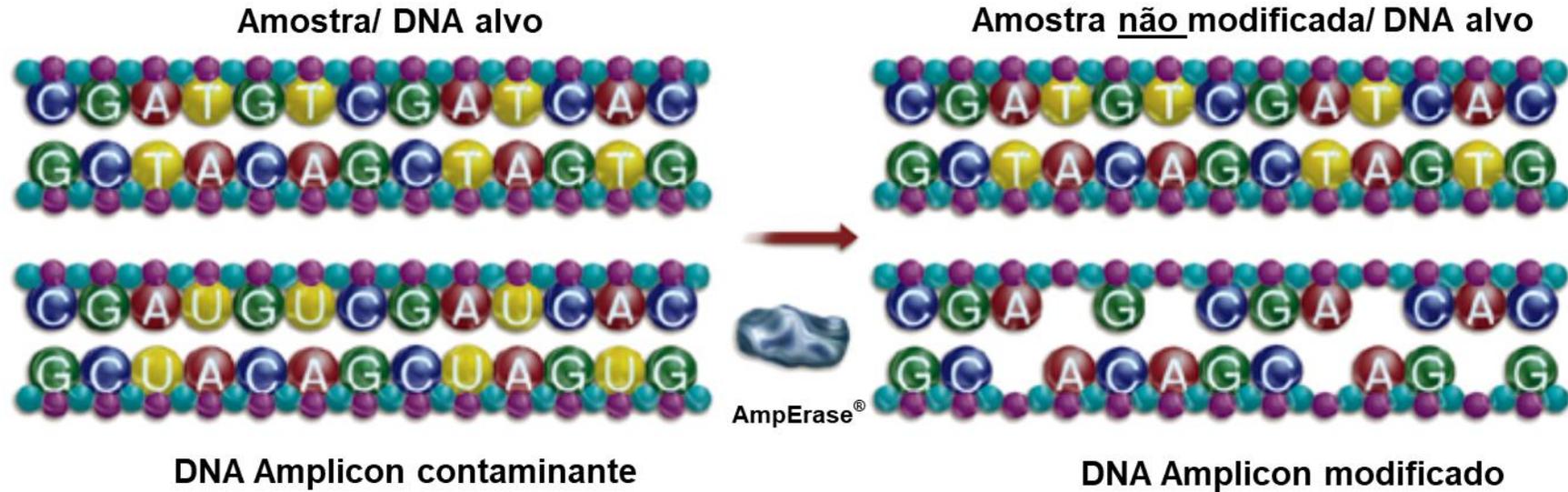
# cobas® HIV-1, HCV e HBV Cassetes de Reagente

- Solução de Proteinase (PASE)
- Padrão de quantificação (QS): Não relacionado ao HIV, HCV ou HBV; plasmídeo de RNA (HIV e HCV) ou DNA (HBV) sintético não infeccioso, encapsulado na proteína bacteriófago MS2 (HIV e HCV) ou em proteína de revestimento bacteriófago Lambda (HBV).
- Tampão de eluição (EB) – Tampão base tris
- Reagente Master Mix 2 (MMX-R2)
  - dNTPs, Primers, Sondas, Aptamer, DNA Polymerase, AmpErase
- Reagente Master Mix 1 (MMX-R1)
  - Acetato de manganês



# Amplificação Seletiva usando a AmpERASE®

*Enzima presente nos Master Mix do teste - responsável por evitar Carry-over*

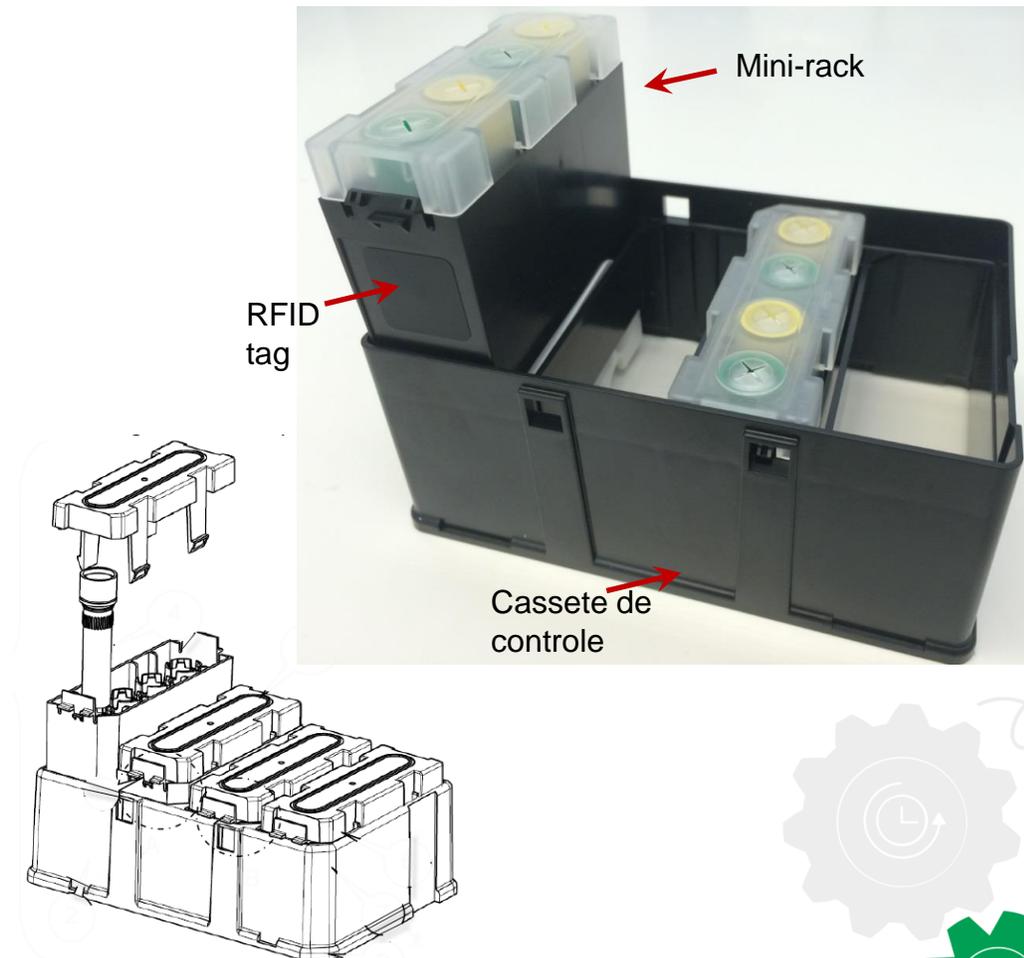


# Reagentes

## *Controles positivos e negativo*

- Cada controle positivo ou negativo contém 4 mini-racks
- Cada mini –rack contém 4 posições para 4 tubos.
- A estabilidade e uso é controlada pelo RFID.

**Nota: Carregue apenas as mini-racks no cobas® 5800.**



# Reagentes

## **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Controle Positivo**

- Pronto para uso
- O cassete de controle contém 16 controles positivos:  
8 x HBV/HCV/HIV-1 L (+) C  
8 x HBV/HCV/HIV-1 H (+) C

Cada controle é para uma única utilização.



Favor consultar as Instruções de Uso de cada teste para maiores informações sobre o controle.



# Reagentes

## **cobas® NHP Controle Negativo**

- Pronto para uso
- Cada cassete contém 16 tubos de controle negativo de plasma humano normal (NHP)

Favor consultar as Instruções de Uso de cada teste para maiores informações sobre o controle.



# Reagentes

## *Reagentes cobas omni*



Os reagentes **cobas omni** Specimen Diluent, **cobas omni** Lysis, **cobas omni** Wash e **cobas omni** MGP também são necessários para realização dos testes.



# Estabilidade dos Reagentes

Reagente	Prazo de validade do kit	Estabilidade do kit aberto	Número de corridas para as quais este kit pode ser usado	Estabilidade a bordo do equipamento
<b>cobas</b> <sup>®</sup> HIV-1 HCV HBV	Prazo não ultrapassado	90 dias desde a primeira utilização	Máx. 40 corridas	Máx. 36 dias*
<b>cobas</b> <sup>®</sup> HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável <sup>a</sup>	Não aplicável	Máx. 36 dias*
<b>cobas</b> <sup>®</sup> NHP Negative Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável <sup>a</sup>	Não aplicável	Máx. 36 dias*
<b>cobas omni</b> Lysis Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
<b>cobas omni</b> MGP Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
<b>cobas omni</b> Specimen Diluent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
<b>cobas omni</b> Wash Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável

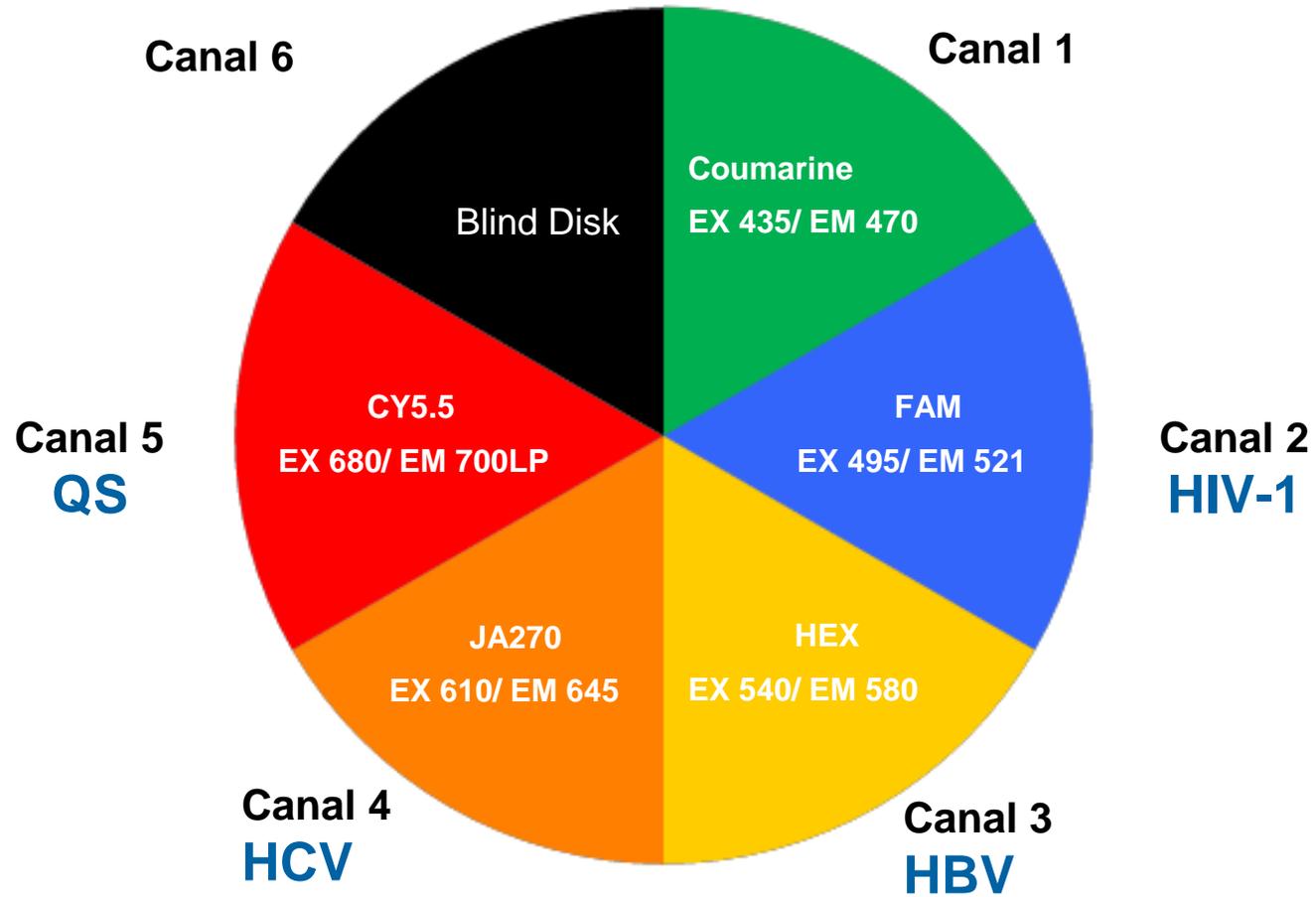
<sup>a</sup> Reagente de utilização única.

\* O tempo é medido a partir da primeira vez que o reagente é carregado no **cobas**<sup>®</sup> 5800 System.



# Interpretação de resultado

## Canais e alvos



# Detecção dos Alvos

- ❑ Probes de Hidrólise - durante a amplificação por PCR, a hibridização das probes no alvo de DNA resulta na clivagem pela atividade de nuclease 5´ - 3´ da DNA Polimerase, resultando na separação do “reporter” dos marcadores “quencher”, gerando o sinal de fluorescência.
- ❑ Os dados de fluorescência são coletados a cada ciclo (após extensão do primer).

<i>Canal</i>	<i>Ensaio</i>	<i>Marcador</i>	<i>Excitação (comprimento de onda/largura nm)</i>	<i>Emissão (comprimento de onda/largura nm)</i>
2	HIV-1	FAM	495/10	521/10
3	HBV	HEX	540/10	580/20
4	HCV	JA270	610/20	645/20
5	QS	CY5.5	680/10	700 LP



# Interpretação de resultados

## ***Controle de qualidade e validação de resultados no cobas® 5800 System***

- Um controle negativo [(-) C] e dois controles positivos um baixo positivo [HxV-1 L (+) C] e alto positivo [HxV-1 H (+) C] são processados pelo menos a cada 72 horas ou com cada novo lote de kits. Controles positivos e/ou negativos podem ser programados com mais frequência com base em procedimentos laboratoriais e/ou regulamentos locais.
- No software do Sistema cobas® 5800 e/ou relatórios, verificar a existência de flags e seus resultados associados para garantir a validade da corrida.
- A corrida é válida se não aparecerem flags para os três controles, o que inclui um controle negativo e dois controles positivos. O resultado do controle negativo é exibido como (-) C e os controles baixo e alto positivo são exibidos como HxV L (+) C e HxV H (+) C.
- Todos os flags são descritos no sistema cobas® 5800 na Assistência ao Usuário.
- A validação dos resultados é feita automaticamente pelo software cobas® 5800 com base no desempenho do controle negativo e positivo.

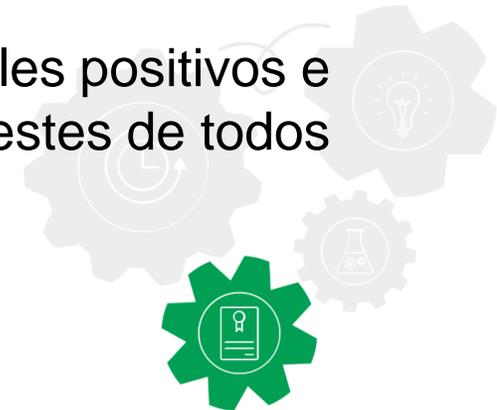


# Interpretação de resultados

## ***Resultados de controle no cobas® 5800 Systems***

Os resultados dos controles são mostrados no software do cobas® 5800 no aplicativo "Controles".

- Os controles são marcados com um "Válido" na coluna "Resultado do controle" se todos os alvos do controle forem considerados como válidos. Os controles são marcados com "Inválido" na coluna "Resultado do controle", se um ou todos dos alvos do controle forem considerados inválidos.
- Os controles marcados com "Inválido" mostram um flag na coluna "Alarmes". Em detalhes, mais informações sobre o motivo pelo qual o controle é mostrado como inválido, incluindo informações do flag.
- Se um dos controles positivos for inválido, repetir os testes de todos os controles positivos e todas as amostras associadas. Se o controle negativo for inválido, repetir os testes de todos os controles e todas as amostras associadas.



# Interpretação de resultados



## Resultados liberados pelo equipamento cobas 5800

Resultado	Relatório de Resultado e exemplo de Interpretação: cobas® HIV-1
Target Not Detected	<i>HIV-1 RNA</i> não detectado. Resultado reportado como " <i>HIV</i> não detectado".
< Titer Min	Concentração está abaixo do Limite Mínimo de Quantificação (LLoQ) do ensaio. Resultado reportado como " <i>HIV-1</i> detectado, menor que a (Concentração Mínima)." Conc. Mín. = 2.00E+01 cp/mL e 3.33E+01 IU/mL (400 µL)
Concentração	O cálculo da concentração está dentro do Range Linear do ensaio – maior ou igual para a concentração mínima e menor ou igual a concentração máxima. Resultado reportado como "(Concentração) do <i>HIV-1</i> detectado".
> Titer Max <sup>1)</sup>	O cálculo da concentração está acima do Limite Máximo de Quantificação (ULoQ) do ensaio. Resultado reportado como " <i>HIV-1</i> detectado, maior que (Concentração Máxima)". Conc. Máx. = 1.00E+07 cp/mL e 1.70E+07 IU/mL (400 µL)
<sup>1)</sup> Resultado da amostra > Conc. Máx se refere às amostras positivas de HIV-1 detectadas com concentração acima do limite máximo de quantificação (ULoQ). Se um resultado quantificado for desejado, a amostra original deverá ser diluída com um plasma EDTA HIV-1 negativo e o teste deverá ser repetido. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição utilizado.	

- ➔ Não foi identificado o gene alvo na amostra
- ➔ O gene alvo foi identificado, mas em um valor abaixo do limite mínimo de detecção (isso é variável a depender do teste)
- ➔ O resultado é informado de acordo ao range de detecção do gene alvo. **Resultado será sempre informado em notação científica!**
- ➔ O gene alvo foi identificado, mas em um valor Acima do limite máximo de detecção (isso é variável a depender do teste)

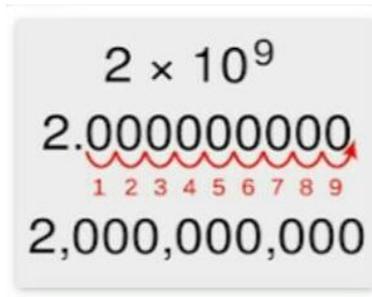
- ❑ A tabela acima representa um exemplo de possíveis resultados válidos diferentes que podem ser reportados. Os exemplos apresentados referem-se ao **cobas® HIV-1**, entretanto, formatos similares de resultados, serão reportados para os testes **cobas® HBV**, e **HCV**.
- ❑ As concentrações do **cobas® HBV** e **HCV** são reportadas na unidade de IU/ml, enquanto as concentrações para o **cobas® HIV-1** são reportadas em cópias/mL.



# Interpretação de resultados

*O que é notação científica e como converter resultados.*

A notação científica é uma forma de escrever números usando potência de 10. É utilizada para reduzir a escrita de números que apresentam muitos algarismos.



## Exemplos:

1.23e+02 UI/ml significa o mesmo que  $1,23 \times 10^2$  UI/ml

Logo, este valor convertido será 123 UI/ml

2.45e+06 cp/ml significa o mesmo que  $2,45 \times 10^6$  cp/ml

Logo, este valor convertido será 2.450.000 cp/ml

**LEMBRE-SE:** este valor obtido pelo equipamento **NÃO** significa o resultado em log.

Para obter o valor em log, devemos realizar a conta:  $\log(2.450.000)$ , que neste exemplo será 6,38.



# Interpretação de resultado

Para uma corrida válida, verifique cada amostra individual quanto à presença de flags no software e/ou no relatório do sistema cobas® 5800. A interpretação do resultado deve ser a seguinte:

- As amostras associadas a corrida de controle válido são indicados como “Válido” na coluna “Resultado de controle”, se todos os Resultados dos alvos de controle forem reportados como válidos. As amostras associadas a corrida de controle falhado são indicados como “Inválido” na coluna “Resultado de controle”, se todos os Resultados dos alvos de controle forem reportados como inválidos.
- Se os controles associados a um resultado de amostra forem inválidos, um flag específico será adicionado ao resultado da amostra como a seguir:
  - Q05D : Falha na validação do resultado devido a um controle positivo inválido
  - Q06D : Falha na validação dos resultados devido a um controle negativo inválido
- Os valores na coluna "Resultados" para resultados de amostra individual devem ser interpretados como mostrado no slide anterior.
- Se um ou mais alvos de amostra forem marcados com "Inválido" o software do cobas® 5800 mostra um flag na coluna de “Alarmes”. Em detalhes, mais informações sobre o motivo pelo qual o(s) alvo (s) de amostra é(são) mostrado(s) como inválido(s), incluindo informações do flag.



# *Doing now what patients need next*

