

Xpert® vanA/vanB

REF GXVANA/B-CE-10

Trademarks, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.

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

Copyright © Cepheid 2011-2023. All rights reserved.

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] são marcas registadas da Cepheid.

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

Copyright © Cepheid 2011-2023. Todos os direitos reservados.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden
Product of Sweden

Xpert® vanA/vanB

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1. Nome proprietário

Xpert® vanA/vanB

2. Nome comum ou usual

Ensaio Xpert vanA/vanB

3. Utilização prevista

O ensaio Xpert vanA/vanB da Cepheid, realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert®, é um teste qualitativo de diagnóstico *in vitro* concebido para uma deteção rápida dos genes com resistência à vancomicina (vanA/vanB) de amostras de zangaratoas rectais e perianais em pacientes em risco de colonização intestinal por bactérias resistentes à vancomicina. O teste utiliza a reação em cadeia de polimerase (PCR) automática em tempo real para detetar os genes vanA e vanB que podem estar associados a enterococos resistentes à vancomicina (VRE — Vancomycin-Resistant Enterococcus). O ensaio Xpert vanA/vanB destina-se a auxiliar na identificação, prevenção e controlo da colonização de organismos resistentes à vancomicina em unidades de saúde. O ensaio Xpert vanA/vanB não se destina ao diagnóstico de VRE, nem à orientação ou à monitorização do tratamento de infeções por VRE. As culturas concomitantes são apenas necessárias para recuperar microrganismos para tipagem epidemiológica, testes de suscetibilidade antimicrobiana e para posterior identificação confirmatória de VRE.

4. Resumo e explicação

Os enterococos resistentes à vancomicina (VRE — Vancomycin-Resistant Enterococcus) tornaram-se uma das principais causas de infeções nosocomiais, especialmente em unidades de cuidados intensivos (UCI). De acordo com um inquérito nacional sobre infeções nosocomiais realizado em 2004, os enterococos representam mais de um terço das infeções ocorridas nas UCI¹. As infeções causadas por VRE foram associadas ao aumento da morbilidade, da mortalidade, da duração do internamento e dos custos hospitalares. O risco de colonização de VRE foi atribuído à utilização de várias classes de antimicrobianos, incluindo glicopeptídeos, cefalosporinas de terceira geração e antibióticos com potente atividade anti-anaeróbia. A propagação de VRE ocorre através do contacto com indivíduos colonizados ou infetados no interior de uma unidade de saúde. Portanto, diversas instituições estão a implementar programas de vigilância ativa para identificar portadores de VRE e isolá-los adequadamente de forma a reduzir a transmissão do agente patogénico. Os programas de rastreio de vigilância ativa testam os pacientes com zangaratoas rectais ou perianais no momento da admissão, uma vez por semana durante o internamento na UCI, após a administração de tratamento antimicrobiano e no momento da alta hospitalar.

5. Princípio do procedimento

O sistema do instrumento GeneXpert automatiza e integra a purificação de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a deteção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR e PCR em tempo real. O sistema consiste num instrumento, computador pessoal e software pré-carregado para realizar testes nas amostras colhidas e ver os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos Xpert descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorre o processo de PCR. Dado que os cartuchos são independentes, a contaminação cruzada entre amostras é eliminada. Para uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*.

O ensaio Xpert vanA/vanB inclui reagentes para a deteção dos genes com resistência vanA e vanB e um controlo de processamento da amostra (SPC — Sample Processing Control) para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e para monitorizar a presença de inibidor(es) na reação PCR. O controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

Os iniciadores e as sondas do ensaio Xpert vanA/vanB detetam sequências de genes com resistência à vancomicina/teicoplanina (vanA, vanB).

6. Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



O kit do ensaio Xpert *vanA/vanB* contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 amostras ou amostras para controlo de qualidade.

O kit contém o seguinte:

Cartuchos do ensaio Xpert <i>vanA/vanB</i> com tubos de reação integrados	10
• Esferas 1, 2 e 3 (secas por liofilização)	1 por cartucho
• Reagente 1	3,0 ml por cartucho
• Reagente 2 (hidróxido de sódio)	3,0 ml por cartucho

Reagente de amostra	1 x 1,7 ml
CD	1 por kit

- Ficheiro de definição do ensaio (ADF — Assay Definition File)
- Instruções para importar o ADF para o software GX
- Instruções de utilização (folheto informativo)

Nota

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

Nota

A seroalbumina bovina (BSA — bovine serum albumin) presente nas esferas deste produto foi produzida a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. O fabrico da BSA também se processou nos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal

6.2 Conservação e manuseamento



- Conserve os cartuchos e reagentes Xpert *vanA/vanB* entre 2 °C e 28 °C.
- Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Utilize o cartucho e os reagentes dentro de 30 minutos após a abertura da tampa.
- Não utilize nenhum reagente que esteja turvo ou que apresente alteração da cor.

7. Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema GeneXpert Dx ou Sistema GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com software exclusivo GeneXpert versão 1.6b ou superior, lápis ótico para leitura de código de barras e manual do utilizador
- Impressora: caso necessite de uma impressora, contacte a assistência ao cliente da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Agitador de vórtice
- Pipetas de transferência estéreis, descartáveis
- Dispositivo de colheita de amostras Cepheid (referência Cepheid 900-0370)


8. Advertências e precauções



- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças) dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais).^{2,3}

- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- O ensaio Xpert *vanA/vanB* não fornece resultados de suscetibilidade. É necessário tempo adicional para cultura e para realizar testes de suscetibilidade.
- Não substitua os reagentes Xpert *vanA/vanB* por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho Xpert *vanA/vanB*, exceto ao adicionar a amostra ou realizar um novo teste.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou sido agitado depois de ter adicionado a amostra.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho de utilização única Xpert *vanA/vanB* é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- ② • Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da vossa 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).
- Conserve o kit Xpert *vanA/vanB* a uma temperatura entre 2 °C e 28 °C.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.

9. Perigos químicos^{7,8}

- Pictograma de perigo GHS da ONU: 
- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Nocivo por ingestão
 - Provoca irritação cutânea
 - Provoca irritação ocular grave
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
 - **Prevenção**
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
 - Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.
 - Evitar a libertação para o ambiente.
 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial
 - **Resposta**
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes.
 - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
 - Tratamento específico, ver informação de primeiros-socorros suplementar.
 - Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
 - Caso a irritação ocular persista: consulte um médico
 - EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
 - Enxaguar a boca.
 - **Conservação/Eliminação**
 - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

10. Colheita, transporte e conservação de amostras

Para obter uma amostra adequada, siga fielmente as instruções desta secção.

Para amostras rectais:

1. Colha a amostra de zaragatoa utilizando o dispositivo de colheita de amostras da Cepheid (referência Cepheid 900-0370).
2. Insira cuidadosamente a zaragatoa aproximadamente 2,5 cm para além do esfíncter anal (de modo a que a ponta de algodão deixe de estar visível) e rode suavemente 3 vezes para garantir uma amostra uniforme em ambas as zaragatoas.
3. Volte a colocar as zaragatoas no recipiente de amostras.
4. Etiquete com a ID da amostra (Sample ID) e envie para o laboratório.
5. Conserve a amostra de zaragatoa a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C. A amostra de zaragatoa ficará estável até 5 dias quando conservada entre 2 °C e 8 °C.



Para amostras perianais:

1. Colha a amostra de zaragatoa utilizando o dispositivo de colheita de amostras da Cepheid (referência Cepheid 900-0370).
2. Afaste as nádegas para expor a zona perianal e, em seguida, utilizando as duas zaragatoas, esfregue completamente a superfície perianal, certificando-se que esfrega a maior superfície possível.
3. Volte a colocar as zaragatoas no recipiente de amostras.
4. Etiquete com a ID da amostra (Sample ID) e envie para o laboratório.
5. Conserve a amostra de zaragatoa a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C. A amostra de zaragatoa ficará estável até 5 dias quando conservada entre 2 °C e 8 °C.



11. Procedimento

11.1 Preparação do cartucho

Importante Inicie o teste dentro de 30 minutos após a adição do reagente de amostra ao cartucho.

Para zaragatoas rectais/perianais:

Nota É necessária apenas uma zaragatoa.

Para adicionar a amostra ao cartucho (Xpert vanA/vanB):

1. Retire o cartucho e o reagente de amostra do kit.
2. Retire uma zaragatoa do recipiente de transporte.
3. Insira a zaragatoa no tubo contendo o reagente de amostra.

Nota Utilize gaze estéril para minimizar os riscos de contaminação.

4. Segure na zaragatoa pela haste perto do bordo do tubo, levante a zaragatoa a alguns milímetros do fundo do tubo e empurre a haste contra o bordo do tubo para a quebrar. Certifique-se de que a zaragatoa é suficientemente curta para permitir que a tampa fique bem apertada.
5. Feche a tampa e coloque no agitador de vórtice na velocidade máxima durante 10 segundos.
6. Abrir a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência estéril descartável, transfira todo o conteúdo do reagente de amostra para a câmara de amostra do cartucho Xpert vanA/vanB.
7. Feche a tampa do cartucho.

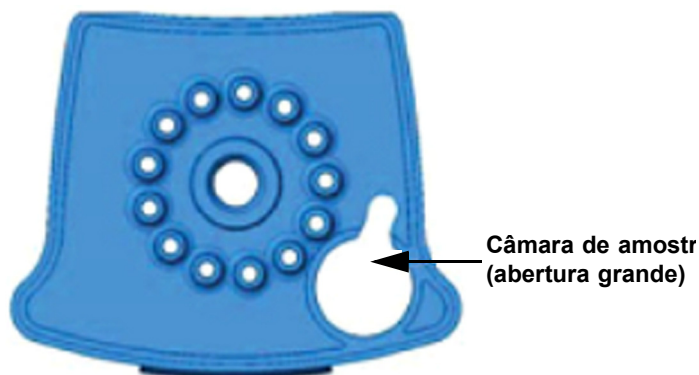


Figura 1. Cartucho Xpert vanA/vanB (vista superior)

11.2 Iniciar o teste

Importante Antes de iniciar o teste, certifique-se de que a definição do ensaio Xpert vanA/vanB foi importada para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do modelo que estiver a utilizar.

1. Ligue o instrumento GeneXpert:
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento GX Dx e, de seguida, o computador. O software GeneXpert inicia automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - Se utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, ative o instrumento. O software GeneXpert inicia automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows.
2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do sistema GeneXpert, clique em **Criar teste (Create Test)** (GeneXpert Dx) ou em **Encomendas (Orders) e Encomendar teste (Order Test)** (Infinity).
4. Leia ou digite a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do paciente (Patient ID) correta. A ID do paciente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela Ver resultados (View Results).
5. Leia ou digite a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra (Sample ID) correta. A ID da amostra (Sample ID) é associada aos resultados do teste e é visualizada na janela Ver resultados (View Results) e em todos os relatórios. Aparece a caixa de diálogo Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode).
6. Digitalize o código de barras do cartucho do ensaio Xpert vanA/vanB. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: Selecionar ensaio (Select Assay), ID do lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).
7. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que aparece.
8. Para o sistema GeneXpert Infinity, coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

ou

No caso do instrumento GeneXpert Dx:

- A. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
- B. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz verde desliga-se.
- C. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho.
- D. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos recipientes apropriados para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

12. Visualização e impressão de resultados

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

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

13. Controlo de qualidade

13.1 Controlos de qualidade integrados

CONTROL

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC) e um controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC).

- **Controlo de processamento da amostra (SPC – Sample Processing Control)** — Assegura que a amostra foi corretamente processada. O SPC contém esporos de *Bacillus globigii*, sob a forma de um bolo seco de esporos que está incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado das bactérias da amostra. O SPC verifica se ocorreu a lise de bactérias resistentes à vancomicina se os organismos estiverem presentes e verifica se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição do ensaio de PCR em tempo real associada à amostra. O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC – Probe Check Control)** — Antes do início da reação PCR, o sistema GeneXpert® Dx mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

14. Interpretação dos resultados

Os resultados são interpolados pelo sistema GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela Ver resultados (View Results) (Figura 2, Figura 3, Figura 4 e Figura 5). Os resultados possíveis são:

Tabela 1. Resultados e interpretação

Resultado	Interpretação
<i>vanA</i> POSITIVO (<i>vanA</i> POSITIVE) Figura 2	ADN-alvo de <i>vanA</i> detetado. <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanA</i> POSITIVO (<i>vanA</i> POSITIVE) — O alvo de <i>vanA</i> tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. • SPC — NA (não aplicável): o SPC é ignorado, dado que a amplificação do <i>vanA</i> poderá competir com este controlo. • Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
<i>vanB</i> POSITIVO (<i>vanB</i> POSITIVE) Figura 4	ADN-alvo de <i>vanB</i> detetado. <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanB</i> POSITIVO (<i>vanB</i> POSITIVE) — O alvo de <i>vanB</i> tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. • SPC — NA (não aplicável): o SPC é ignorado, dado que a amplificação do <i>vanB</i> poderá competir com este controlo. • Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Tabela 1. Resultados e interpretação (continuação)

Resultado	Interpretação
<i>vanA</i> POSITIVO, <i>vanB</i> POSITIVO (<i>vanA</i> POSITIVE, <i>vanB</i> POSITIVE)	ADN-alvo de <i>vanA</i> e <i>vanB</i> detetado. <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> POSITIVO (<i>vanA</i> POSITIVE) — O alvo de <i>vanA</i> tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. <i>vanB</i> POSITIVO (<i>vanB</i> POSITIVE) — O alvo de <i>vanB</i> tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. SPC — NA (não aplicável): o SPC é ignorado, dado que a amplificação do <i>vanA</i> e/ou <i>vanB</i> poderá competir com este controlo. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
NEGATIVO (NEGATIVE) Figura 3	ADN-alvo de <i>vanA</i> e <i>vanB</i> não detetado. O SPC preenche os critérios de aceitação. <ul style="list-style-type: none"> NEGATIVO (NEGATIVE) — ADN-alvo de <i>vanA</i> ou <i>vanB</i> não detetado. SPC — APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
INVÁLIDO (INVALID)	A presença ou ausência de <i>vanA/vanB</i> não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção Procedimento de repetição do teste abaixo. O SPC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR está inibida. <ul style="list-style-type: none"> INVÁLIDO (INVALID) — não é possível determinar a presença ou ausência de ADN de <i>vanA</i> ou <i>vanB</i>. SPC — FALHO (FAIL); os resultados do alvo de <i>vanA</i> e <i>vanB</i> são negativos, o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido e o ponto final é inferior à definição mínima. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
ERRO (ERROR) Figura 5	A presença ou ausência de <i>vanA/vanB</i> não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção Procedimento de repetição do teste abaixo. O controlo de verificação da sonda falhou, provavelmente porque o tubo de reação não foi enchido adequadamente, foi detetado um problema de integridade da sonda ou porque os limites de pressão máxima foram excedidos. <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> — SEM RESULTADO (NO RESULT) <i>vanB</i> — SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC — SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda — FALHO (FAIL)*; todos ou um dos resultados de verificação da sonda falharam *Se a verificação da sonda passou, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.
SEM RESULTADO (NO RESULT)	A presença ou ausência de <i>vanA/vanB</i> não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção Procedimento de repetição do teste abaixo. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste (por exemplo, o utilizador parou um teste que estava em curso). <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> — SEM RESULTADO (NO RESULT) <i>vanB</i> — SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC — SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda — NA (não aplicável)

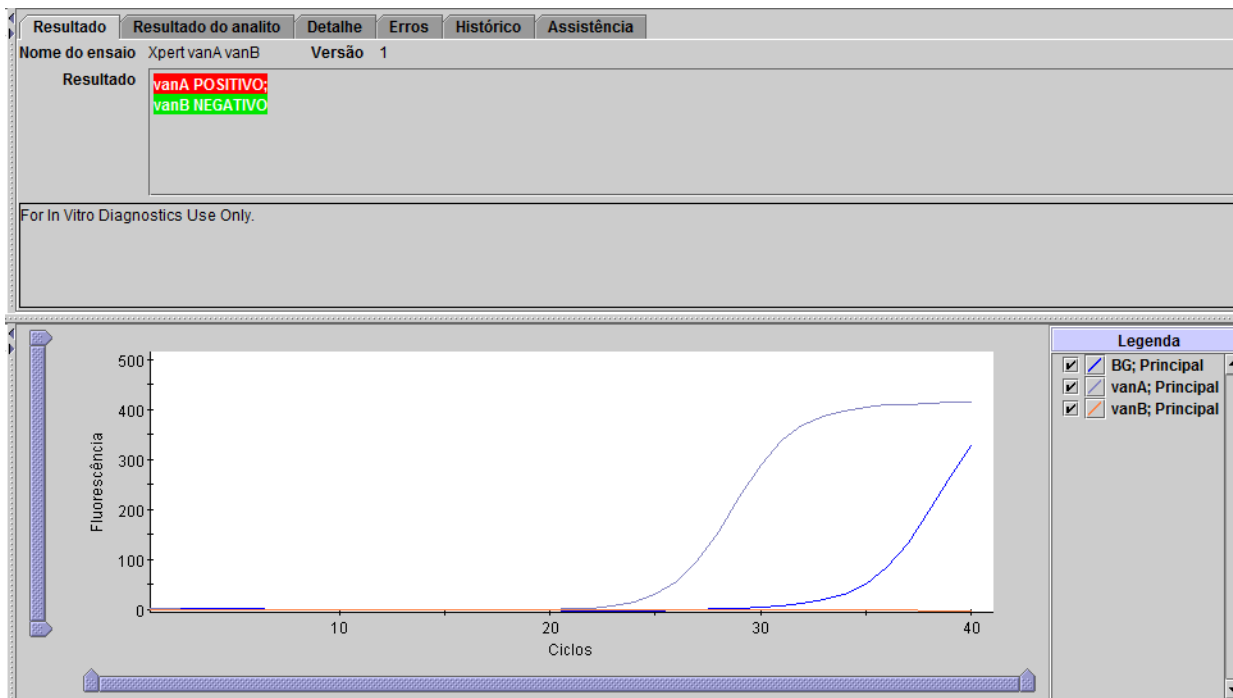


Figura 2. Exemplo de resultado positivo de *vanA* e resultado negativo de *vanB*

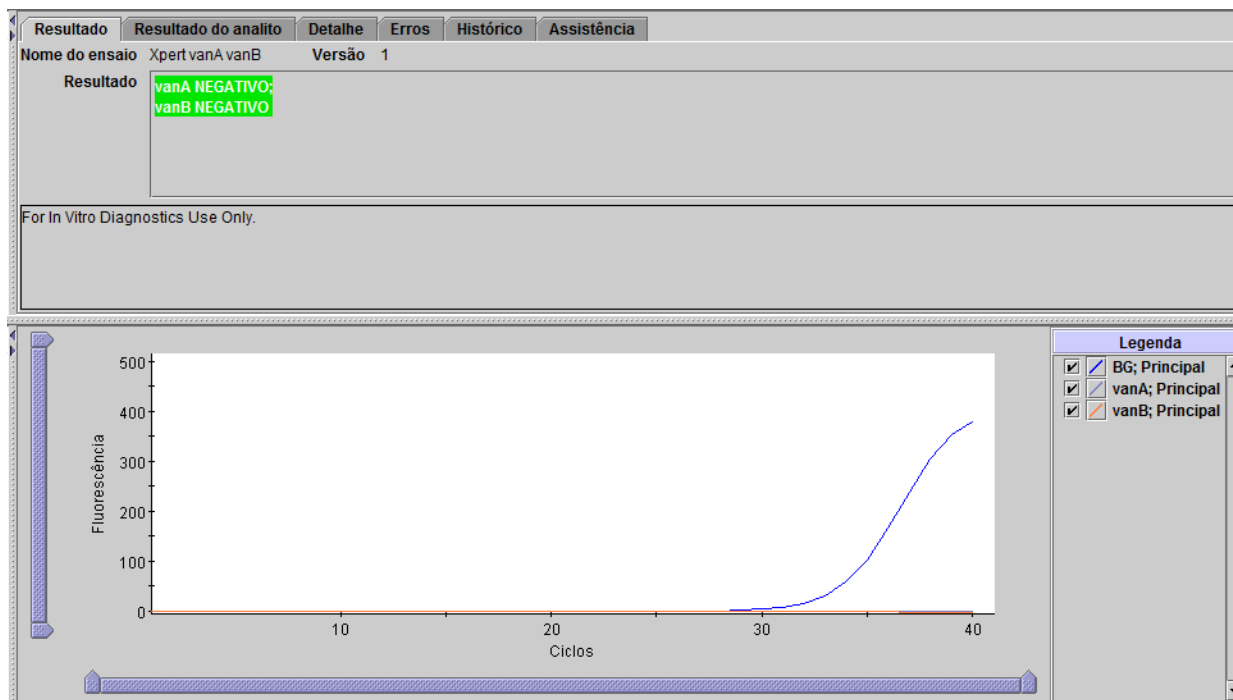


Figura 3. Exemplo de resultado negativo de *vanA* e *vanB*

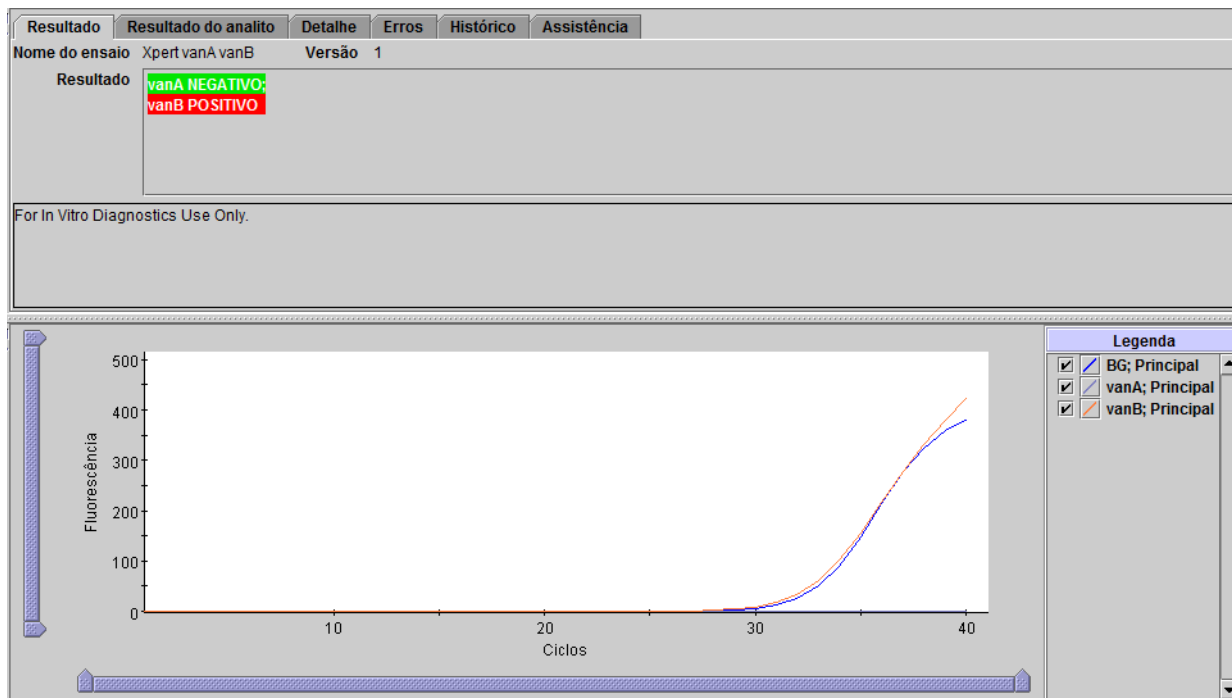


Figura 4. Exemplo de resultado negativo de *vanA* e resultado positivo de *vanB*



Figura 5. Exemplo de um resultado de erro

15. Repetição de um teste

15.1 Motivos para repetir o teste

Se ocorrer algum dos resultados de teste mencionados abaixo, repita o teste de acordo com as instruções da secção seguinte intitulada Secção 15.2, Procedimento de repetição do teste.

Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o controlo de processamento da amostra (SPC — Specimen Processing Control) falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.

Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o controlo de verificação da sonda falhou e que o ensaio foi abortado, possivelmente devido ao tubo de reação não ter sido adequadamente enchido, à deteção de um problema de integridade da sonda de reagente ou a terem sido excedidos os limites de pressão máxima.

SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.

15.2 Procedimento de repetição do teste

Para uma repetição de teste dentro de 3 horas da obtenção de um resultado indeterminado, utilize um novo cartucho Xpert vanA/vanB (não reutilize o cartucho) e um novo frasco de reagente de amostra. Transfira todo o restante conteúdo da câmara S para um reagente de amostra. Coloque no agitador de vórtice e adicione a totalidade do conteúdo do reagente de amostra à câmara de amostra do novo cartucho Xpert vanA/vanB.

16. Limitações

- O desempenho do ensaio Xpert vanA/vanB foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste. Os resultados do ensaio Xpert vanA/vanB deverão ser interpretados em conjunção com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- Resultados de teste incorretos podem ser originados por uma incorreta colheita de amostras, incumprimento dos procedimentos recomendados para colheita, manuseamento e conservação de amostras, erro técnico, troca de amostras ou porque o número de organismos na amostra é demasiado baixo para ser detetado pelo teste. Para se evitarem resultados incorretos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.
- Como a deteção de VRE depende do número de organismos presentes na amostra, os resultados fidedignos dependem da correta colheita, manuseamento e conservação da amostra.
- Voltar a processar o ensaio Xpert vanA/vanB quando os resultados são **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)** e **SEM RESULTADO (NO RESULT)** dependerá das práticas e políticas de cada instalação. Deverão estar disponíveis procedimentos alternativos. Para cultura, as restantes amostras de zaragatoa deverão ser colocadas em sistemas de transporte adequados e a cultura deverá ser efetuada dentro de 4 dias.
- Um resultado de teste positivo não indica necessariamente a presença de organismo viável. Presume-se, no entanto, a presença de VRE.
- Os resultados do Xpert vanA/vanB positivos para vanB na ausência de vanA podem dever-se a outros organismos que não VRE. Recomenda-se a confirmação por cultura nestes organismos.
- Tal como descrito na literatura, é possível encontrar algumas bactérias aeróbias e anaeróbias contendo o gene vanB^{4,5,6}, podendo estas ser detetadas através deste ensaio. No entanto, desconhece-se a relevância clínica destes resultados. Foi sugerido que as bactérias anaeróbias positivas para o gene vanB constituem um reservatório de determinantes de resistência à vancomicina¹, mas esta hipótese ainda não foi comprovada.
- Os testes com o ensaio Xpert vanA/vanB devem ser utilizados como auxiliares de outros métodos disponíveis. Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador ou da sonda podem afetar a deteção de variantes novas ou desconhecidas de VRE e podem originar um resultado falso negativo.
- A utilização de outro sistema de colheita e transporte de amostras que não o dispositivo de colheita de amostras da Cepheid não é recomendada nem foi certificada.
- O ensaio Xpert vanA/vanB deteta o gene vanA, não o microrganismo. Portanto, é possível que genes vanA presentes em não enterococos, tais como estirpes de Staphylococcus aureus resistentes à vancomicina, também apresentem um resultado positivo.
- Devido ao fator de diluição associado ao procedimento de repetição do teste, é possível que as amostras positivas para vanA e vanB muito próximas ou em cima do limite de deteção (LoD) do ensaio Xpert vanA/vanB possam originar um resultado falso negativo na repetição do teste.
- Os resultados do teste também podem ser afetados por terapia antibiótica concomitante ou pelo número de organismos na amostra, que pode ser inferior ao limite de deteção do teste.

17. Características do desempenho

17.1 Desempenho clínico

As características do desempenho do ensaio Xpert *vanA/vanB* foram determinadas num estudo multicêntrico de investigação prospetiva em quatro instituições dos Estados Unidos e num centro na Europa, mediante a comparação entre o ensaio Xpert *vanA/vanB* no sistema GeneXpert (ensaio Xpert *vanA/vanB*) e o método de cultura. Para serem incluídas no estudo, as amostras tinham de ser provenientes de indivíduos cujas culturas eram indicadas e/ou encomendadas, de acordo com as práticas institucionais.

Utilizou-se uma amostra de zaragatoa no teste com o ensaio Xpert *vanA/vanB*. A segunda zaragatoa foi enviada para o laboratório de cultura central, exceto o centro na Europa. Após a receção no centro de cultura central, a zaragatoa foi utilizada para inocular uma placa de agar bilis esculina azida com vancomicina e, em seguida, foi colocada em caldo de bilis esculina contendo vancomicina. Após 24 horas de incubação a + 35 °C, o caldo foi subcultivado em agar bilis esculina azida com vancomicina e examinado após 24 horas e 48 horas. Após coloração de Gram e teste do PYR, identificou-se VRE presumível utilizando tiras API20S (BioMérieux, França). A determinação de *vanA* e/ou *vanB* foi realizada utilizando tiras ETEST (AB Biodisk, Suécia) para vancomicina e teicoplanina.

17.2 Resultados globais

Foi testado um total de 878 amostras de zaragatoa rectal quanto a VRE utilizando o ensaio Xpert *vanA/vanB*, em comparação com o método de cultura direta. Foi testado um total de 878 amostras de zaragatoa rectal quanto a VRE utilizando o ensaio Xpert *vanA/vanB*, em comparação com o método de cultura enriquecida.

Foi testado um total de 429 amostras de zaragatoa perianais quanto a VRE utilizando o ensaio Xpert *vanA/vanB*, em comparação com o método de cultura direta. Foi testado um total de 430 amostras de zaragatoa perianais quanto a VRE utilizando o ensaio Xpert *vanA/vanB*, em comparação com o método de cultura enriquecida.

A sensibilidade, especificidade, o valor preditivo positivo (VPP) e o valor preditivo negativo (VPN) referentes ao ensaio Xpert *vanA/vanB* estão apresentados na Tabela 2 e Tabela 3.

Tabela 2. Características do desempenho do ensaio Xpert vanA/vanB por tipo de amostra método de cultura direta

Xpert vanA/vanB vs. cultura direta vanA com IC de 95%				
	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
Perianal	98,1% (51/52) (89,7% - 100,0%)	93,4% (352/377) (90,4% - 95,7%)	67,1% (51/76) (55,4% - 77,5%)	99,7% (352/353) (98,4% - 100,0%)
Retal	96,5% (83/86) (90,1% - 99,3%)	91,5% (725/792) (89,4% - 93,4%)	55,3% (83/150) (47,0% - 63,4%)	99,6% (725/728) (98,8% - 99,9%)
Total	97,1% (134/138) (92,7% - 99,2%)	91,2% (1077/1169) (90,4% - 93,6%)	59,3% (134/226) (52,6% - 65,8%)	99,6% (1077/1081) (99,1% - 99,9%)
Xpert vanA/vanB vs. cultura direta vanB com IC de 95%				
	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
Perianal	25% (1/4) (0,6% - 80,6%) ^a	94,1% (400/425) (91,4% - 96,2%)	3,8% (1/26) (0,1% - 19,6%)	99,3% (400/403) (97,8% - 99,8%)
Retal	100% (13/13) (79,4% - 100,0%)	83,9% (726/865) (81,3% - 86,3%)	8,6% (13/152) (4,6% - 14,2%)	100% (726/726) (99,6% - 100,0%)
Total	82,4% (14/17) (56,6% - 96,2%)	87,3% (1126/1290) (85,3% - 89,1%)	7,9% (14/178) (4,4% - 12,8%)	99,7% (1126/1129) (99,2% - 99,9%)
Xpert vanA/vanB vs. cultura direta vanA/vanB com IC de 95%				
	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
Perianal	92,9% (52/56) (82,7% - 98,0%)	88,7% (331/373) (85,1% - 91,8%)	55,3% (52/94) (44,7% - 65,6%)	98,8% (331/335) (97,0% - 99,7%)
Retal	99,0% (96/97) (94,4% - 100,0%)	79,3% (619/781) (76,2% - 82,1%)	37,2% (96/258) (31,3% - 43,4%)	99,8% (619/620) (99,1% - 100,0%)
Total	96,7% (148/153) (92,5% - 98,9%)	82,3% (950/1154) (80,0% - 84,5%)	42,0% (148/352) (36,8% - 47,4%)	99,5% (950/955) (98,8% - 99,8%)

^a O principal fator que contribuiu para a sensibilidade mais baixa de 25% para a detecção de vanB em amostras perianais foi o número reduzido de amostras positivas para vanB por cultura. De forma geral, observou-se uma baixa prevalência de vanB na população em estudo.

Tabela 3. Características do desempenho do ensaio Xpert vanA/vanB por tipo de amostra e método de cultura enriquecida

Xpert vanA/vanB vs. cultura enriquecida vanA com IC de 95%				
	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
Perianal	90,6% (58/64) (80,7% - 96,5%)	95,1% (348/366) (92,3% - 97,1%)	76,3% (58/76) (65,2% - 85,3%)	98,3% (348/354) (96,3% - 99,4%)
Retal	92,0% (103/112) (85,3% - 96,3%)	94,0% (720/766) (92,1% - 95,6%)	69,1% (103/149) (61,0% - 76,4%)	98,8% (720/729) (97,7% - 99,4%)
Total	91,5% (161/176) (86,3% - 95,2%)	94,3% (1068/1132) (92,8% - 95,6%)	71,6% (161/225) (65,2% - 77,4%)	98,6% (1068/1083) (97,7% - 99,2%)
Xpert vanA/vanB vs. cultura enriquecida vanB com IC de 95%				
	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
Perianal	25% (1/4) (0,6% - 80,6%) ^a	94,1% (401/426) (91,5% - 96,2%)	3,8% (1/26) (0,1% - 18,6%)	99,3% (401/404) (97,8% - 99,8%)
Retal	100% (13/13) (79,4% - 100,0%)	83,9% (726/865) (81,3% - 86,3%)	8,6% (13/152) (4,6% - 14,2%)	100% (726/726) (99,6% - 100,0%)
Total	82,4% (14/17) (56,6% - 96,2%)	87,3% (1127/1291) (85,4% - 89,1%)	7,9% (14/178) (4,4% - 12,8%)	99,7% (1127/1130) (99,2% - 99,9%)
Xpert vanA/vanB vs. cultura enriquecida vanA/vanB com IC de 95%				
	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
Perianal	86,8% (59/68) (76,4% - 93,8%)	90,3% (327/362) (86,8% - 93,2%)	62,8% (59/94) (52,2% - 72,5%)	97,3% (327/336) (95,0% - 98,8%)
Retal	94,3% (115/122) (88,5% - 97,7%)	81,2% (614/756) (78,2% - 83,9%)	44,7% (115/257) (38,6% - 51,1%)	98,9% (614/621) (97,7% - 99,5%)
Total	91,6% (174/190) (86,6% - 95,1%)	84,2% (941/1118) (81,9% - 86,3%)	49,6% (174/351) (44,2% - 54,9%)	98,3% (941/957) (97,3% - 99,0%)

^a O principal fator que contribuiu para a sensibilidade mais baixa de 25% para a detecção de vanB em amostras perianais foi o número reduzido de amostras positivas para vanB por cultura. De forma geral, observou-se uma baixa prevalência de vanB na população em estudo.

18. Especificidade analítica

Foram colhidas, quantificadas e testadas 42 estirpes bacterianas e fúngicas utilizando o ensaio Xpert vanA/vanB. As estirpes foram obtidas através da American Type Culture Collection (ATCC), da Coleção de Culturas da Universidade de Gotemburgo (CCUG), da Coleção Alemã de Microorganismos e Culturas Celulares (DSMZ) e dos Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

Os organismos testados foram identificados como Gram-positivos (22), Gram-negativos (18), incluindo estirpes de *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp. resistentes a antibióticos, e leveduras (2). Os organismos foram ainda classificados como aeróbios (24), anaeróbios (14) ou microaerófilos (2). As espécies testadas incluíam duas (2) estirpes resistentes à vancomicina representando *E. faecalis* e *E. faecium*.

Cada estirpe foi testada em triplicado em concentrações que variaram entre $8,5 \times 10^8$ e $2,3 \times 10^{10}$ UFC/zaragatoa. As leveduras foram testadas a, aproximadamente, 10^7 células por zaragatoa. Incluíram-se no estudo controlos positivos e negativos. Nas condições do estudo, todos os isolados foram apresentados como “vanA NEGATIVO (vanA NEGATIVE)” e “vanB NEGATIVO (vanB NEGATIVE)”. A especificidade analítica foi de 100%.

19. Sensibilidade analítica

Realizaram-se estudos para determinar os intervalos de confiança de 95% para o limite de detecção analítico (LoD) de *Enterococcus faecium* (*vanA*) e *Enterococcus faecalis* (*vanB*) diluídos numa matriz fecal de origem humana que pode ser detetada pelo ensaio Xpert *vanA/vanB*. A matriz fecal consistiu em fezes líquidas humanas autoclavadas (negativas para *vanA* e negativas para *vanB* pelo ensaio Xpert *vanA/vanB*) diluídas a 1:10 em tampão Tris. O LoD é definido como o número mais baixo de unidades formadoras de colónias (UFC) por zaragatoa que pode ser continuamente reproduzido e distinguido de amostras negativas com 95% de confiança.

O LoD analítico foi calculado utilizando 4 a 10 réplicas a cada diluição. O LoD foi confirmado através da análise de um total de 20 réplicas com concentração calculada para o LoD.

Nas condições deste estudo, o limite de detecção do ensaio Xpert *vanA/vanB* numa amostra de zaragatoa retal simulada é de 37 UFC para o alvo *vanA* e de 112 UFC para o alvo *vanB*.

20. Substâncias interferentes

Foram testadas 16 substâncias exógenas ocasionalmente utilizadas ou encontradas em fezes para a avaliar a interferência com o ensaio Xpert *vanA/vanB*. As substâncias testadas encontram-se na Tabela 1. Nenhuma das 16 substâncias testadas demonstrou interferência com *vanA*. No entanto, duas das 16 substâncias exógenas, creme de hidrocortisona (hidrocortisona a 1%) e Pepto-Bismol® (subsalicilato de bismuto a 1% – 5%), têm o potencial de interferir com *vanB*. Quando testados no estudo de interferência, o creme de hidrocortisona e Pepto-Bismol® resultaram em valores de Ct ligeiramente superiores ao controlo tampão.

Tabela 4. Substâncias testadas quanto a interferência com o Xpert *vanA/vanB*

Substância	Substância
Sangue total Hospital Universitário de Karolinska	Vaselina Unilever
Mucina (porcina) Sigma	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Kaopectate® Chattem	Preparation H® em toalhetes individuais Wyeth Consumer Healthcare
Imodium® McNeil-PPC	Vancomicina Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazol Actavis
Gorduras fecais Hospital Universitário de Karolinska	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC	Sulfato de bário E-Z-HDTM de elevada densidade para suspensão E-Z-EM Canada
Creme de hidrocortisona Longs Drugs ^a	Pepto-Bismol® Proctor & Gamble ^a

^a Quando testados no estudo de interferência, os resultados apresentaram valores de Ct ligeiramente superiores ao controlo tampão.

21. Referências

1. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 to June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*. 2004; 32:470-485.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
4. Stinear TP, Olden DC, Johnson PD, Davies JK, Grayson ML. Enterococcal *vanB* Resistance Locus in Anaerobic Bacteria in Human Feces. *The Lancet*. 2001. 357:855-856.
5. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR, Grayson ML. Comparison of Three PCR Primer Sets for Identification of *vanB* Gene Carriage in Feces and Correlation with Carriage of Vancomycin-Resistant Enterococci: Interference by *vanB*-Containing Anaerobic Bacilli. *Antimicrob Agents and Chemother*. 2005. 49(1): 77-81.
6. Domingo M.-C, Huletsky A, Bernal A, Giroux A, Boudreau DK, Picard FJ, Bergeron MG. Characterization of a Tn5382-like Transposon Containing the *vanB2* Gene Cluster in a *Clostridium* Strain Isolated from Human Faeces. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2005. 55(4):466-74.
7. REGULATION (EO) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing. List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2007)
8. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).

22. Locais das sedes da Cepheid

Sede corporativa

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Estados Unidos da América
Telefone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
França
Telefone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

23. Assistência Técnica

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

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



















Informações de contacto

Estados Unidos da América
Telefone: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

França
Telefone: + 33 563 825 319
E-mail: support@cepheideurope.com

As informações de contacto para outros escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

24. Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Cuidado
	Marca CE – Conformidade Europeia
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Mandatário na Suíça
	Importador
	Fabricante
	País de fabrico
	Contém suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Atenção



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Suécia

Produto da Suécia



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



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



