

# Xpert<sup>®</sup> MRSA NxG

**REF** GXMRSA-NXG-CE-10

**REF** GXMRSA-NXG-CE-120

Instruções de utilização

CE **IVD**

## **Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright**

### **Trademark Patents and Copyright Statements**

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

All other trademarks are the property of their respective owners.

The purchase of this product includes a limited, non-transferable license under U.S. Patent No. 7,449,289 and its international counterparts owned by GeneOhm Sciences Canada, Inc (a subsidiary of Becton, Dickinson and Company), to use such product for human IVD use with a GeneXpert® instrument. No right under said patents is conveyed, expressly, by implication, or by estoppel, to use this product for any other purpose.

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

**© 2016–2023 Cepheid.**

See Revision History for a description of changes.

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

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A compra deste produto inclui uma licença limitada e não transferível no âmbito da patente dos EUA n.º 7,449,289 e parceiras internacionais, pertencente à GeneOhm Sciences Canada, Inc (uma subsidiária da Becton, Dickinson and Company), para utilizar este produto no diagnóstico in vitro (IVD) de material humano com um instrumento GeneXpert®. Nenhum direito é atribuído, expressamente, por implicação ou preclusão, no âmbito desta patente, para a utilização deste produto com qualquer outra finalidade.

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

**© 2016–2023 Cepheid.**

Consulte uma descrição das alterações no Secção 25.

# Xpert MRSA NxG

---

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

## 1 Nome proprietário

Xpert® MRSA NxG

## 2 Nome comum ou usual

Teste Xpert MRSA NxG

## 3 Utilização prevista

O teste Xpert MRSA NxG, realizado no , é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo que se destina à detecção de ADN de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) diretamente a partir de zaragatoas nasais em pacientes em risco de colonização nasal. O teste utiliza a reação em cadeia da polimerase (PCR) automática em tempo real para a amplificação de alvos de ADN de MRSA específicos e sondas de hibridização fluorogénicas específicas para os alvos, para a detecção em tempo real do ADN amplificado. O teste Xpert MRSA NxG destina-se a ajudar na prevenção e controlo de infeções por MRSA em estabelecimentos de cuidados de saúde. O teste Xpert MRSA NxG não se destina ao diagnóstico, à orientação ou à monitorização do tratamento de infeções por MRSA nem ao fornecimento de resultados da suscetibilidade à meticilina. Um resultado negativo não exclui a colonização nasal por MRSA. São necessárias culturas concomitantes para colheita de microrganismos para tipagem epidemiológica ou testes de suscetibilidade suplementares.

## 4 Resumo e explicação

O *Staphylococcus aureus* (SA) é um agente patogénico humano bem documentado que provoca infeções comunitárias ou associadas a cuidados de saúde. É um importante agente patogénico associado a cuidados de saúde, que pode ser responsável por diversas doenças incluindo bacteriemia, pneumonia, osteomielite, endocardite aguda, síndrome de choque tóxico, intoxicação alimentar, miocardite, síndrome da pele escaldada, carbúnculo, furúnculos e abscessos.<sup>1</sup>

No início da década de 1950, a aquisição e a propagação de plasmídeos codificadores de beta-lactamase prejudicaram a eficácia da penicilina no tratamento de infeções por *S. aureus* (SA). Em 1959, foi introduzida a meticilina, uma penicilina semissintética. No entanto, por volta de 1960, foram identificadas estirpes de SA resistentes à meticilina (MRSA). Sabe-se agora que a resistência é conferida quando o SA adquire um complexo de gene *mec* que contém o gene *mecA* ou *mecC* denominado cassette cromossómica estafilocócica (SCC). O MRSA causa infeções em unidades de saúde e na comunidade, resultando em morbidade e mortalidade significativas. Foi descrita uma mortalidade atribuível de 33% para a bacteriemia por MRSA. Em diversos estabelecimentos de saúde foram desenvolvidas e implementadas estratégias e políticas de controlo para limitar a propagação destas infeções. O controlo do MRSA é um dos principais objetivos da maioria dos programas de prevenção de infeções em hospitais.<sup>1-5</sup> Atualmente, o método padrão para detecção de MRSA é a cultura, que pode exigir vários dias para gerar um resultado definitivo. Um estudo realizado em pacientes dos hospitais Veterans Administration nos EUA demonstrou um impacto significativo na redução das infeções por MRSA associadas aos cuidados de saúde através da utilização do rastreio universal dos pacientes quanto à colonização nasal por MRSA quando são internados, como parte de um conjunto de medidas de controlo de infeções.<sup>6</sup>

## 5 Princípio do procedimento

O teste Xpert MRSA NxG é realizado no . O automatiza e integra a preparação de amostras, a extração e amplificação de ácidos nucleicos e a detecção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-carregado para execução de testes e

visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorre esse processo. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para obter uma descrição completa do sistema, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual* ou o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

O teste Xpert MRSA NxG inclui reagentes para a deteção de MRSA. Também estão incluídos no cartucho um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC) e um controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC). O SPC está presente para controlar o processamento adequado da amostra e para monitorizar a presença de inibidores na reação de PCR. O PCC verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

Os primers e as sondas do teste Xpert MRSA NxG detetam sequências exclusivas de resistência à meticilina/oxacilina (genes *mecA* e *mecC*) e *SCCmec*, que é inserida no cromossoma do SA no local *attB*.

Uma função de conclusão antecipada do ensaio fornece resultados positivos se o ADN-alvo atingir um limiar predeterminado antes de terem sido concluídos os 40 ciclos completos da PCR. Quando os níveis de MRSA (*mecA/mecC* e *SCCmec*) forem suficientemente altos para gerarem Ct (limiares de ciclo) muito precoces, não será visualizada a curva de amplificação do SPC e os respetivos resultados não serão comunicados.

## 6 Reagentes e instrumentos

### 6.1 Materiais fornecidos

O kit do teste Xpert MRSA NxG (GXMRSA-NXG-CE-10 ou GXMRSA-NXG-CE-120) contém reagentes suficientes para processar 10 ou 120 amostras, respetivamente. Os kits contêm o seguinte:

Xpert MRSA NxG Cartuchos com tubos de reação integrados	10 por kit	120 por kit
• Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas)	1 de cada por cartucho	1 de cada por cartucho
• Reagente 1	3,0 ml por cartucho	3,0 ml por cartucho
• Reagente 2 (hidróxido de sódio)	3,5 ml por cartucho	3,5 ml por cartucho
<b>Xpert MRSA NxG Reagente de eluição</b> (tiocianato de guanidínio)	<b>10 x 2,0 ml por frasco</b>	<b>120 x 2,0 ml por frasco</b>
<b>CD</b>	<b>1 por kit</b>	<b>1 por kit</b>
• Ficheiros de definição do ensaio (ADF — assay definition files)		
• Instruções para importar o ADF para o software		
• Instruções de utilização (folheto informativo)		

**Nota** As fichas de dados de segurança (FDS) estão disponíveis em [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) ou [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

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

## 6.2 Conservação e manuseamento

- Conserve os cartuchos e reagentes Xpert MRSA NxG 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.
- O reagente de eluição é um líquido incolor. Não utilize o reagente de eluição se este ficar descorado.

## 6.3 Materiais necessários mas não fornecidos

- ou (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com o software exclusivo GeneXpert versão 4.3 ou posterior, leitor de código de barras e manual do utilizador.
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Agitador vórtex
- Zaragatoas para colheita de amostras, tais como as zaragatoas fornecidas no dispositivo de colheita de amostras da Cepheid (zaragatoa dupla em rayon em meio de Stuart líquido, referência 900-0370) ou sistemas Copan de colheita e transporte de zaragatoa de eluição (ESwab) em meio de Amies líquido (Copan 480C, Copan 480CE ou kit de colheita BD ESwab, referência n.º 220245).
- Pipeta para transferência de uma amostra ESwab™, como Poly-Pipets de 300 µl descartáveis, pipeta de transferência de volume exato estéril (referência 300-8533) ou equivalente.
- Pipetas de transferência estéreis, descartáveis para transferência do reagente de eluição Xpert MRSA NxG.
- Gaze estéril

## 6.4 Materiais disponíveis mas não fornecidos

- Controlo negativo NATtrol™ MRSA, número de catálogo NATMSSE-6MC da ZeptoMetrix Corporation (*Staphylococcus epidermidis* suscetível à meticilina inativado)
- Controlo positivo NATtrol MRSA, número de catálogo NATMRSA-6MC da ZeptoMetrix Corporation (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina inativado)

## 7 Advertências e precauções

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos e reagentes 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<sup>7</sup> e no Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais)<sup>8</sup>.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Não substitua os reagentes do teste Xpert MRSA NxG por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do teste Xpert MRSA NxG até estar pronto para adicionar a amostra.
- Não utilize um cartucho que tiver caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respetiva tampa pode produzir resultados inválidos.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho nem no rótulo do código de barras.
- Cada cartucho do teste Xpert MRSA NxG de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Use batas e luvas limpas. Troque de luvas entre o processamento de cada amostra.
- Na eventualidade da contaminação da área de trabalho ou do equipamento com amostras ou controlos, limpe bem a área contaminada com uma solução de lixívia de cloro doméstica com diluição 1:10 e depois repita a limpeza da área de trabalho com etanol a 70%. Secar as superfícies de trabalho até secarem completamente antes de prosseguir.
- 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 de Saúde).

- Resultados fiáveis dependem da colheita, transporte, conservação e processamento adequados das amostras. Podem ocorrer resultados de teste incorretos devido a incorreções na colheita, no manuseamento ou na conservação da amostra, erro técnico, troca de amostras ou por o número de microrganismos na amostra ser inferior ao limite de deteção do teste. Para se evitarem resultados erróneos, é necessário o seguimento cuidadoso das instruções do folheto informativo e do *GeneXpert System Operator Manual*.
- A execução do teste Xpert MRSA NxG fora dos intervalos de tempo e temperatura recomendados pode produzir resultados erróneos ou inválidos. Os ensaios não executados dentro dos intervalos especificados devem ser repetidos.

## 8 Riscos químicos<sup>9,10</sup>

- 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.

## 9 Colheita, transporte e conservação de amostras

### 9.1 Colheita de amostras

Siga as linhas de orientação da sua instituição relativas à colheita de amostras em zaragatoas nasais utilizando um dispositivo de colheita e transporte recomendado (consulte a secção Secção 6.3) e/ou siga as instruções a seguir:

- Quando utilizar as *zaragatoas em rayon duplas*, mantenha ambas as zaragatoas sempre fixas à tampa vermelha. Segurando a tampa da zaragatoa com ambas as zaragatoas fixas, faça a colheita de cada uma das narinas de cada vez. Coloque as amostras de zaragatoa dupla no tubo de transporte contendo o meio de Stuart líquido.

ou

- Quando utilizar a *ESwab*, colha a amostra nasal colhendo amostras das duas narinas, uma de cada vez, com a mesma zaragatoa. Coloque a zaragatoa no tubo de transporte contendo o meio de transporte de Amies líquido.

## 9.2 Transporte e conservação de amostras

Manter condições adequadas de transporte e conservação da amostra de zaragatoa antes da utilização para assegurar a integridade da amostra. Não foi avaliada a estabilidade da amostra com o teste Tabela 1 nas condições de transporte e conservação além das recomendadas abaixo Xpert MRSA NxG.

**Tabela 1. Condições de transporte e conservação de amostras**

Dispositivo de colheita de amostras	Temperatura de transporte e conservação de amostras (°C)	Tempo de conservação de amostras
Rayon (dupla da Cepheid) ou ESwab	15 °C-30 °C	Até 24 horas
	2 °C-8 °C	Até 7 dias

## 10 Procedimento

### 10.1 Preparação do cartucho

#### Importante

Coloque o cartucho no instrumento GeneXpert no prazo de 30 minutos após a adição do reagente de eluição ao cartucho.

1. Retire um cartucho e frasco de reagente de eluição do kit de teste Xpert MRSA NxG.
2. Adicionar a amostra ao cartucho:
 

*Zaragatoas duplas*

  - a) Retire as zaragatoas do recipiente de transporte. Utilize apenas uma das zaragatoas para o teste do ensaio. A segunda zaragatoa pode ser usada para repetir o teste e deve ser conservada de acordo com a Tabela 1.
  - b) Insira a zaragatoa no frasco contendo o reagente de eluição e parta a zaragatoa na marca gravada na haste da zaragatoa.

#### Nota

Envolve a haste da zaragatoa e a abertura do frasco do reagente de eluição com gaze estéril (não fornecida) quando partir a zaragatoa para minimizar o risco de contaminação.

OU

*ESwab*

- a) Misture o meio de transporte de Amies líquido contendo a amostra em zaragatoa no agitador de vórtice a alta velocidade, durante 5 segundos, para libertar a amostra da ponta da zaragatoa e dispersá-la uniformemente no meio de transporte líquido.
  - b) Utilizando a pipeta de transferência de volume exato (não fornecida), transfira 300 µl da amostra líquida para o frasco do reagente de eluição.
3. Feche a tampa do frasco do reagente de eluição e agite no agitador de vórtice à velocidade máxima durante 10 segundos.
  4. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência (não fornecida), transfira todo o conteúdo do reagente de eluição para a câmara da amostra do cartucho do teste Xpert MRSA NxG. Ver Figura 1.



Figura 1. Cartucho (vista de cima)

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

## 10.2 Iniciar o teste

**Importante** Se estiver a utilizar um *sistema GeneXpert Dx*, antes de iniciar o teste, certifique-se de que o sistema está a executar o software GeneXpert Dx versão 4.7b ou posterior e de que o ficheiro de definição do teste correto é importado para o software.

**Importante** Se estiver a utilizar um *sistema GeneXpert Infinity*, antes de iniciar o teste, certifique-se de que o sistema está a executar o software Xpertise versão 6.4b ou posterior e de que o ficheiro de definição do teste correto é importado 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.

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

1. Ligue o instrumento GeneXpert:
  - Se estiver a utilizar o *instrumento GeneXpert Dx*, comece por ligar o instrumento GeneXpert Dx e, de seguida, o computador. O software GeneXpert arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
  - ou
  - Se estiver a utilizar o *instrumento GeneXpert Infinity*, ative o instrumento. O software Xpertise arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique 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). A janela **Criar teste (Create Test)** abre-se. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID do doente (Scan Patient ID)**.
4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta. A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. A caixa de diálogo **Ler código de barras da ID da amostra (Scan Sample ID Barcode)** abre-se.
5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta. A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é visualizada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.

- Leia o código de barras do cartucho . Utilizando as informações do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

**Nota**

Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, aparecerá um ecrã que indica que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã aparecer, contacte a assistência técnica da Cepheid.

- Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que aparece, caso seja necessário.
- 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*:

- Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
- Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
- Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo. De seguida, remova o cartucho.
- Elimine os cartuchos usados no recipiente apropriado para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

## 11 Visualização e impressão de resultados

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

- Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
- 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.

## 12 Controlos de qualidade integrados

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra e um controlo de verificação da sonda.

- Controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC)** — assegura que a amostra foi processada corretamente. O SPC verifica se ocorreu a lise da bactéria caso os microrganismos estejam 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, assegura que as condições da PCR (temperatura e tempo) são adequadas para a reação de amplificação e que os reagentes de PCR estão funcionais. 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)** — antes do início da reação de PCR, o sistema GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.
- Controlos externos**— Os controlos externos descritos na Secção 6.4 estão disponíveis, mas não são fornecidos e podem ser utilizados em conformidade com as organizações de acreditação locais e nacionais, consoante aplicável.

Para executar um controlo utilizando o teste Xpert MRSA NxG:

- Agite o controlo NATtrol num agitador de vórtice durante 5 a 10 segundos.
- Pipete 100 µl de controlo NATtrol em 2 ml de reagente de eluição.
- Agite o reagente de eluição o agitador de vórtice durante 5 a 10 segundos.
- Utilize uma pipeta de transferência (não fornecida) para transferir todo o conteúdo do frasco do reagente de eluição para a câmara de amostra do cartucho.
- Feche a tampa do cartucho e inicie o teste seguindo as instruções na Iniciar o teste.

## 13 Interpretação dos resultados

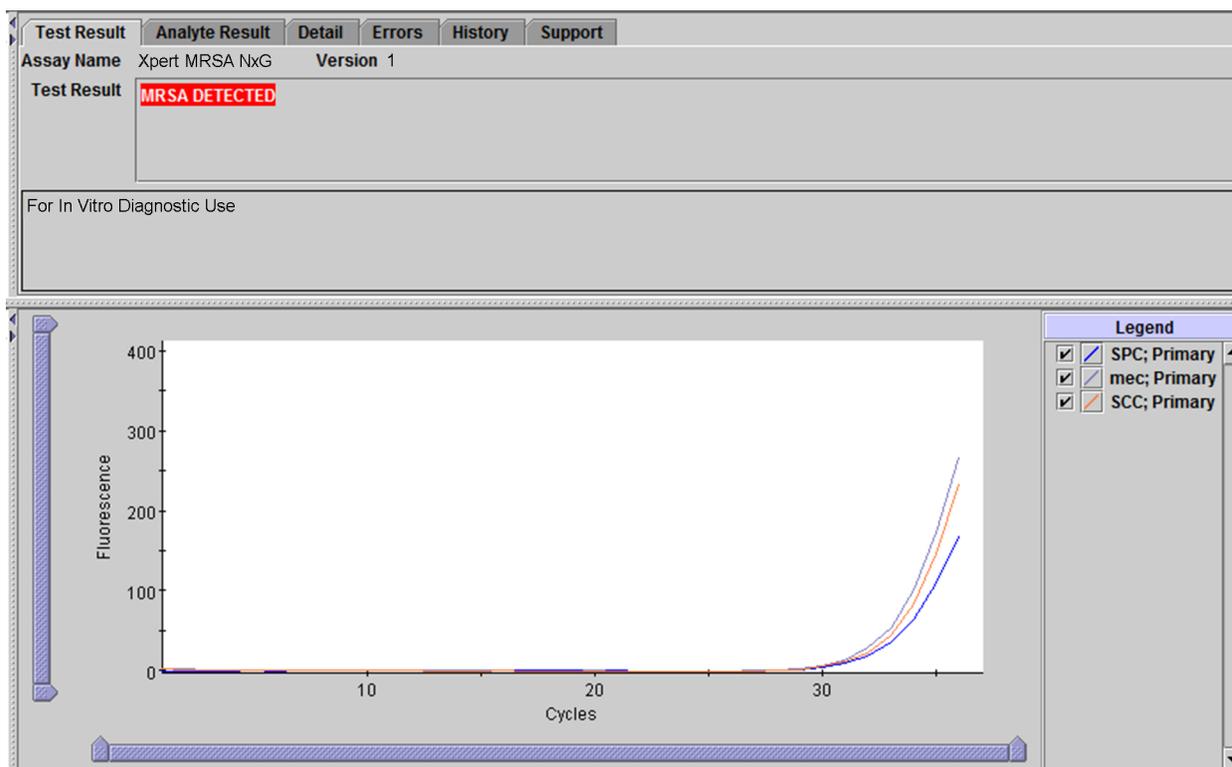
Os resultados são interpretados pelo sistema GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela **Ver resultados (View Results)**. Os resultados possíveis são apresentados na tabela a seguir.

Tabela 2. Resultados do teste Xpert MRSA NxG e sua interpretação

Resultado	Interpretação
<b>MRSA DETETADO (MRSA DETECTED)</b> Ver Figura 2.	Detetado ADN do MRSA. <ul style="list-style-type: none"> <li>MRSA DETETADO (MRSA DETECTED): os alvos de MRSA, <i>mec</i> (<i>mecA/mecC</i>) e SCCmec têm um limiar de ciclo (Ct) dentro do intervalo válido.</li> <li>SPC — NA (não aplicável); o sinal de SPC não faz parte do algoritmo de interpretação dos resultados se o MRSA for detetado, porque o sinal de SPC pode ser suprimido devido a competição com <i>mec</i> (<i>mecA/mecC</i>) e SCCmec.</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<b>MRSA NÃO DETETADO (MRSA NOT DETECTED)</b> Ver Figura 3. Ver Figura 4. Ver Figura 5.	ADN do MRSA não detetado <ul style="list-style-type: none"> <li>MRSA NÃO DETETADO (MRSA NOT DETECTED): Cenários</li> <li>O ADN-alvo para o SCCmec não é detetado e o ADN-alvo para o <i>mec</i> (<i>mecA/mecC</i>) não é detetado — Figura 3</li> <li>O ADN-alvo para o SCCmec não é detetado e o ADN-alvo para o <i>mec</i> (<i>mecA/mecC</i>) é detetado — Figura 4</li> <li>O ADN-alvo para o SCCmec é detetado e o ADN-alvo para o <i>mec</i> (<i>mecA/mecC</i>) não é detetado — Figura 5</li> <li>SPC: APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct dentro do intervalo válido e ambos os ADN-alvo do <i>mec</i> (<i>mecA/mecC</i>) e SCCmec não são detetados. Ou, se o <i>mec</i> (<i>mecA/mecC</i>) ou a SCCmec apresentarem um valor de Ct válido, o resultado do SPC é ignorado.</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<b>INVÁLIDO (INVALID)</b> Ver Figura 6.	Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo do MRSA ( <i>mecA/mecC</i> ou SCCmec). Repita o teste de acordo com as instruções da Seção 15. <ul style="list-style-type: none"> <li>O ADN-alvo para a SCCmec não é detetado e o ADN-alvo para o <i>mec</i> (<i>mecA/mecC</i>) não é detetado.</li> <li>SPC: FALHO (FAIL); o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<b>ERRO (ERROR)</b>	Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo do MRSA ( <i>mecA/mecC</i> ou SCCmec). Repita o teste de acordo com as instruções da Seção 15. <ul style="list-style-type: none"> <li><i>mec</i> (<i>mecA/mecC</i>): SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>SCCmec: SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>SPC SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>PCC: FALHO (FAIL)*; um ou mais dos resultados de verificação da sonda falharam.</li> </ul> <p>* Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro foi causado pela falha de um dos componentes do sistema.</p>

Resultado	Interpretação
<b>SEM RESULTADO (NO RESULT)</b>	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo do MRSA (mecA/mecC ou SCCmec). Utilize as instruções na Secção 15. <b>SEM RESULTADO (NO RESULT)</b> indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mec (mecA/mecC): SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SCCmec: SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• PCC: N/A (não aplicável). Um erro causado devido ao limite de pressão máxima ter excedido o intervalo aceitável termina a execução antes da verificação da sonda.</li> </ul>

**Nota** Os ecrãs apresentados na Figura 2, Figura 3, Figura 4, Figura 5 e Figura 6 são exemplos de um a executar o software GeneXpert Dx.



**Figura 2. Exemplo de um resultado MRSA DETETADO (MRSA DETECTED)**

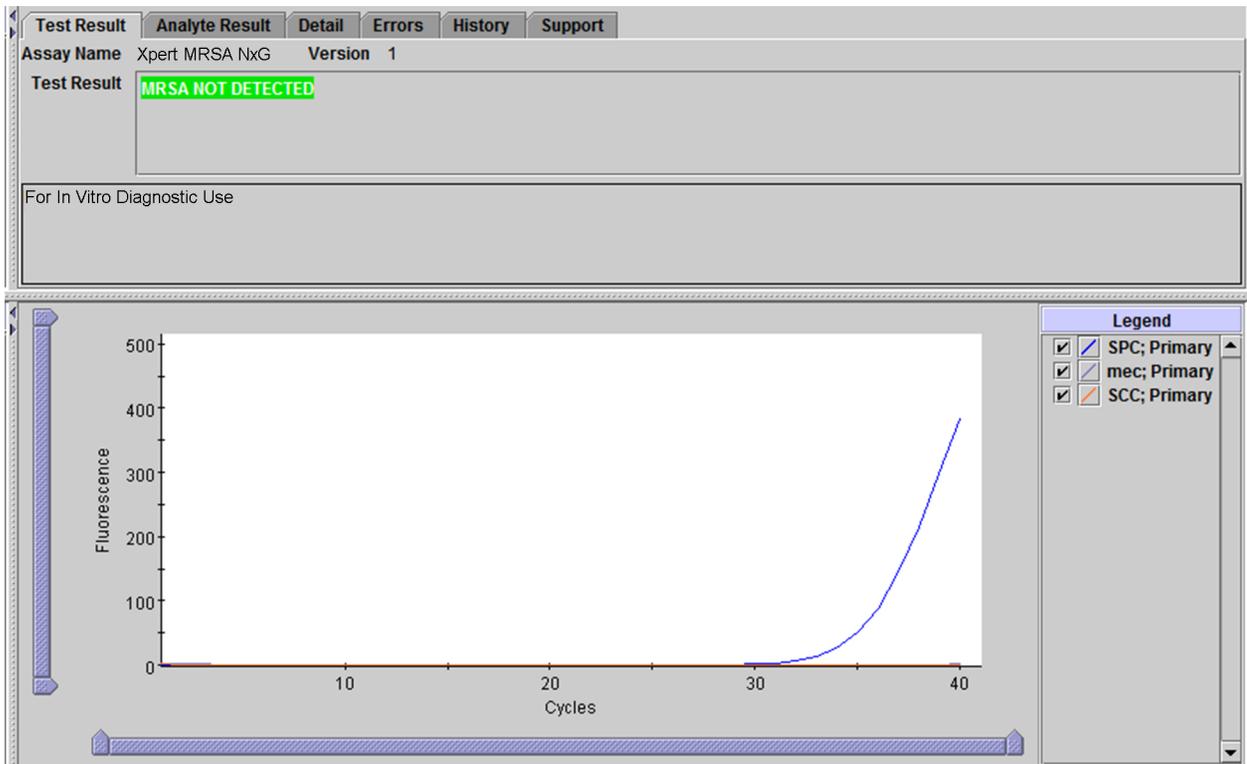


Figura 3. Exemplo de um resultado MRSA NÃO DETETADO (MRSA NOT DETECTED)

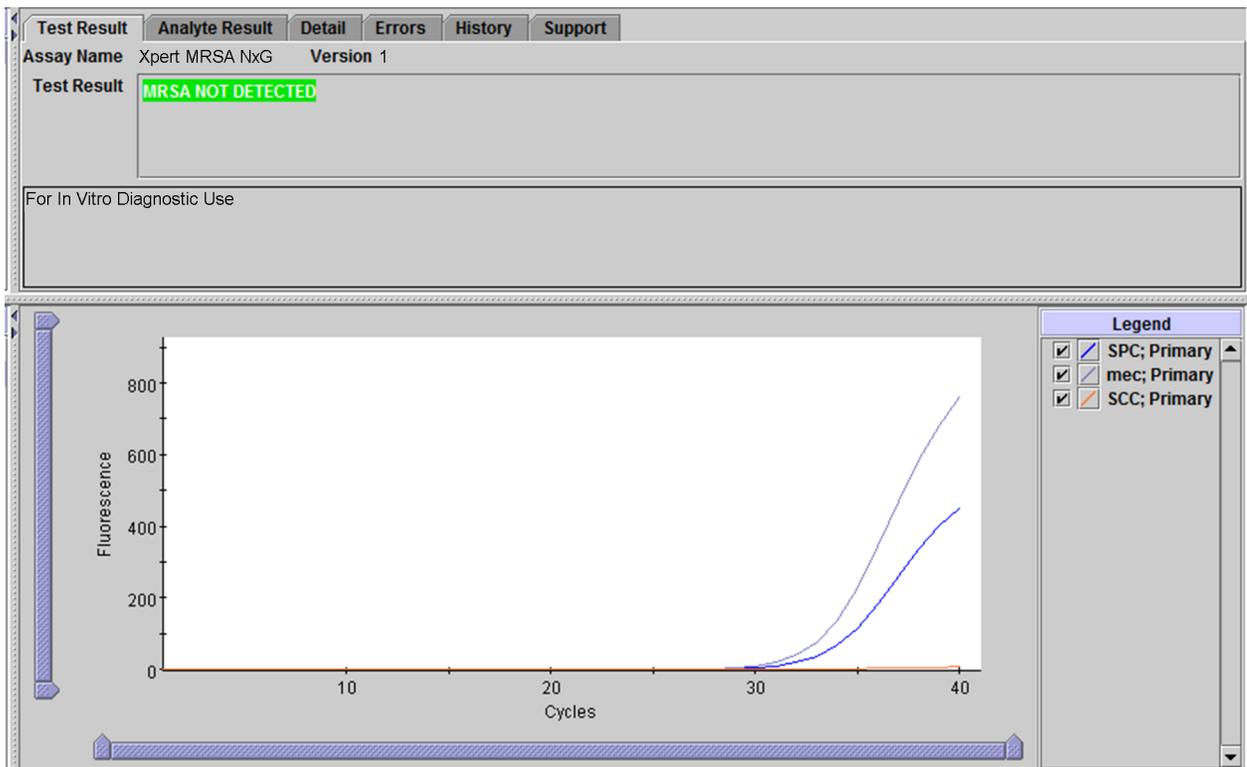


Figura 4. Exemplo de um resultado MRSA NÃO DETETADO (MRSA NOT DETECTED)

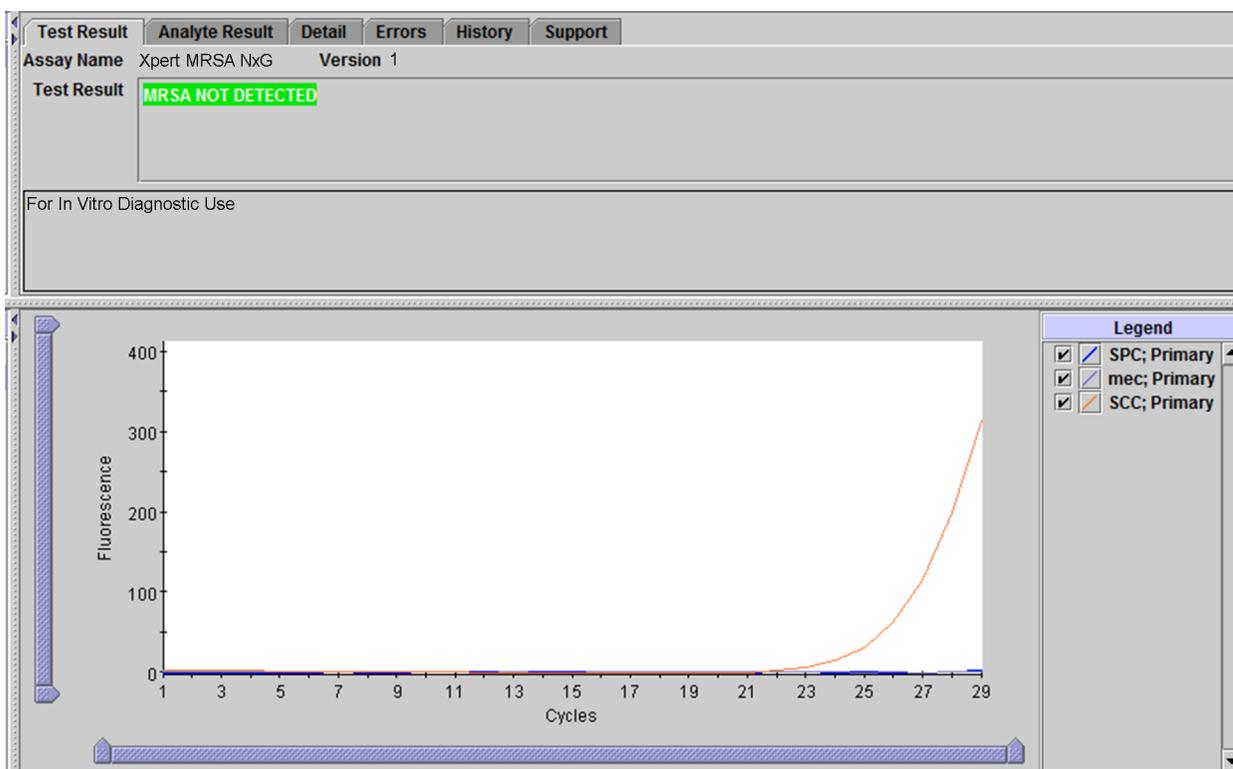


Figura 5. Exemplo de um resultado MRSA NÃO DETETADO (MRSA NOT DETECTED)

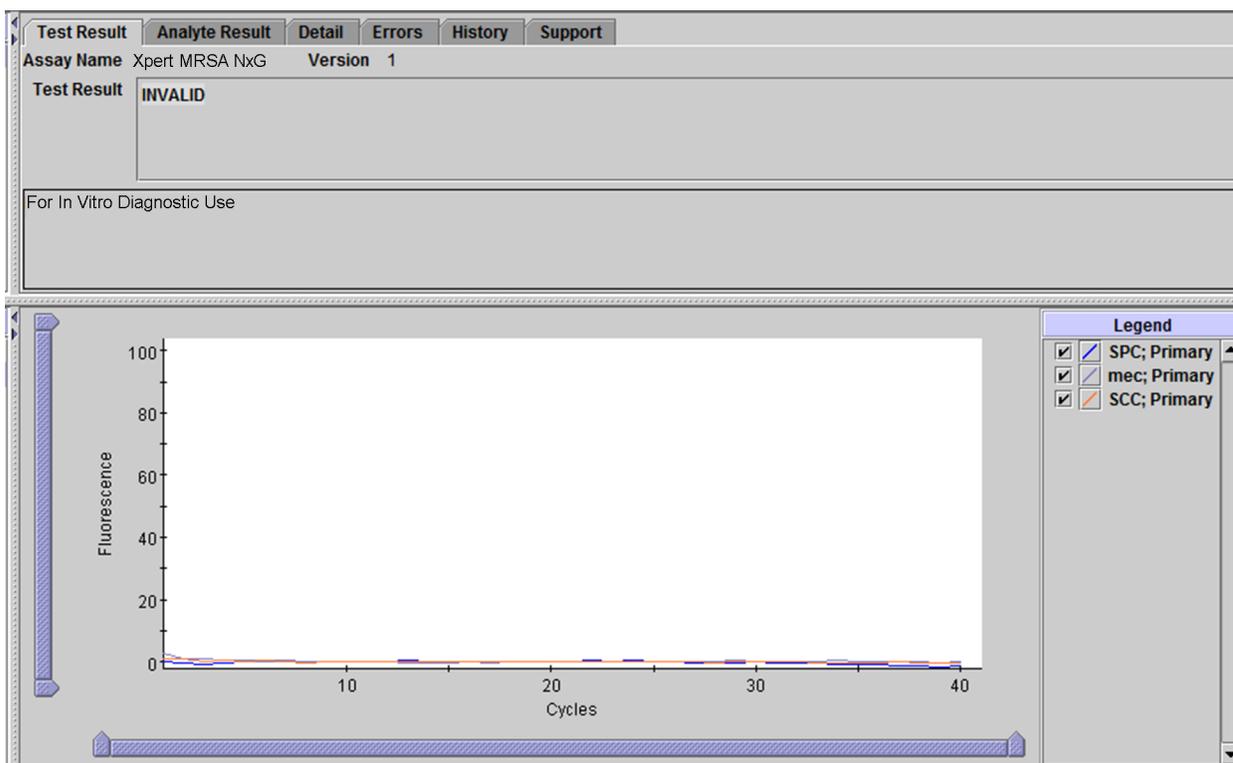


Figura 6. Exemplo de um resultado INVÁLIDO (INVALID)

## 14 Motivos para repetir o teste

A amostra deve ser novamente testada se algum dos seguintes resultados for obtido com o primeiro teste. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 15.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o controlo SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o controlo de verificação da sonda pode ter falhado ou que os limites máximos de pressão foram excedidos.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que foram colhidos dados insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.
- Se o desempenho do controlo externo não for o esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a assistência técnica da Cepheid.

## 15 Procedimento de repetição do teste

Repita o teste utilizando um novo cartucho (não reutilize o cartucho) e um novo frasco de reagente de eluição.

1. Retire o cartucho e o frasco do reagente de eluição do kit de teste Xpert MRSA NxG .

2. Adicionar a amostra ao cartucho:

*Zaragatoas duplas*

- a) Retire a zaragatoa restante do recipiente de transporte.
- b) Insira a zaragatoa no frasco contendo o reagente de eluição e parta a zaragatoa na marca gravada na haste da zaragatoa.

---

**Nota** Envolver a haste da zaragatoa e a abertura do frasco do reagente de eluição com gaze estéril (não fornecida) quando partir a zaragatoa para minimizar o risco de contaminação.

---

OU

*ESwab*

- a) Misture o meio de transporte de Amies líquido restante contendo a amostra em zaragatoa no agitador de vórtice a alta velocidade, durante 5 segundos, para dispersar a amostra uniformemente no meio de transporte líquido.
  - b) Utilizando uma pipeta de transferência (não fornecida), transfira 300 µl da amostra líquida para o frasco do reagente de eluição.
3. Feche a tampa do frasco do reagente de eluição e agite no agitador de vórtice a alta velocidade durante 10 segundos.
  4. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência (não fornecida), transfira todo o conteúdo do reagente de eluição para a câmara da amostra do cartucho do teste Xpert MRSA NxG. Ver Figura 1.
  5. Feche a tampa do cartucho e inicie o teste.

## 16 Limitações

- O seguimento cuidadoso das instruções deste folheto informativo e dos folhetos informativos dos dispositivos de colheita de amostra da Cepheid (dispositivo de colheita de amostras da Cepheid, sistemas Copan de colheita e transporte de zaragatoa dupla em rayon, sistema de colheita e transporte de zaragatoa de eluição em meio de Amies [ESwab]) é necessário para se evitarem resultados erróneos.
- O desempenho do teste Xpert MRSA NxG não foi avaliado em pacientes com idade inferior a dois anos.
- O teste Xpert MRSA NxG não se destina ao diagnóstico, à orientação nem à monitorização do tratamento de infeções por MRSA nem a determinar a suscetibilidade à metilina.
- Tal com muitos testes de diagnóstico, os resultados do teste Xpert MRSA NxG deverão ser interpretados juntamente com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha e deverão ser utilizados como adjuvantes nos esforços de controlo de infeções nosocomiais para a identificação de pacientes que necessitem de precauções reforçadas. Os resultados não deverão ser utilizados para orientar ou monitorizar o tratamento de infeções por MRSA.
- Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de microrganismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de MRSA.
- Um resultado de teste negativo não exclui a possibilidade de colonização nasal porque os resultados de teste podem ser afetados por colheita de amostras inadequada, erro técnico, confusão entre amostras ou devido ao número de microrganismos na amostra ser inferior ao limite de deteção do teste.

- São necessárias culturas concomitantes para recuperação de microrganismos para tipagem epidemiológica ou testes de suscetibilidade suplementares.
- O teste Xpert MRSA NxG fornece resultados qualitativos. Não pode ser estabelecida nenhuma correlação entre a magnitude do valor de Ct e o número de células numa amostra infetada.
- Mutações ou polimorfismos de nucleótidos nas regiões de ligação do iniciador (primer) ou da sonda poderão afetar a detecção de variantes de MRSA novas ou desconhecidas, originando um resultado falso negativo.
- Um resultado positivo do teste Xpert MRSA NxG não indica necessariamente a falha da intervenção de erradicação, uma vez que pode persistir ADN não-viável. Um resultado de teste negativo após um resultado de teste previamente positivo pode ou não indicar o sucesso da erradicação.
- Como a detecção de MRSA depende da quantidade de ADN presente na amostra, os resultados fidedignos dependem da correta colheita, manuseamento e conservação da amostra.
- O teste Xpert MRSA NxG pode gerar um resultado falso positivo para MRSA (**MRSA DETETADO [MRSA DETECTED]**) ao testar uma amostra nasal com infecção mista que contenha *Staphylococcus coagulase-negativo* resistente à metilina e SA de cassete vazia.
- O teste Xpert MRSA NxG poderá gerar um resultado falso negativo para MRSA (**MRSA NÃO DETETADO [MRSA NOT DETECTED]**) em caso de co-colonização com *Staphylococcus aureus* (MRSA) resistente à metilina e *Staphylococcus aureus* (SA) de cassete vazia. Isto pode ocorrer nos casos raros em que o título de um microrganismo SA de cassete vazia é substancialmente mais elevado do que do microrganismo MRSA.
- Pode observar-se interferência no ensaio na presença de Nasonex ( $\geq 50\%$  v/v), Flonase ( $\geq 50\%$  v/v) e Beconase ( $\geq 40\%$  v/v).

## 17 Valores esperados

A prevalência global de MRSA pelo teste Xpert MRSA NxG, observada em amostras de zaragatoa nasal colhidas em dois estudos clínicos do teste Xpert MRSA NxG separados em que foram utilizadas zaragatoas em rayon e ESwab, é apresentada na tabela a seguir.

**Tabela 3. Prevalência global de MRSA observada em testes clínicos**

Dispositivo de colheita de amostras	Prevalência global de MRSA observada com o teste Xpert MRSA NxG por dispositivo de colheita
Dispositivo de colheita de amostras da Cepheid (zaragatoa em Rayon)	12,8% (141/1103)
Sistema de colheita e transporte de zaragatoa de eluição (ESwab) em meio de Amies líquido	12,9% (109/846)

## 18 Desempenho clínico

As características do desempenho do teste Xpert MRSA NxG foram determinadas em dois estudos de investigação prospetivos multicêntricos separados que utilizaram amostras nasais colhidas de indivíduos em risco de colonização nasal por *S. aureus* resistente à metilina (MRSA). No primeiro estudo, oito centros de investigação nos EUA e fora dos EUA testaram o teste Xpert MRSA NxG com zaragatoas nasais colhidas com o dispositivo de colheita de amostras da Cepheid (zaragatoa em rayon). No segundo estudo, seis centros de investigação nos EUA testaram o teste Xpert MRSA NxG com zaragatoas nasais colhidas utilizando o sistema de colheita e transporte de zaragatoa de eluição (ESwab) em meio de Amies líquido. Nos estudos e nas análises não foram incluídas mais de uma amostra por indivíduo.

Os resultados do teste Xpert MRSA NxG foram comparados com a cultura de referência e os resultados da suscetibilidade.

O método de referência comparativo consistiu numa cultura direta em meio cromogénico seletivo para MRSA e em cultura enriquecida. O enriquecimento da amostra foi realizado em meio líquido de tripticase de soja (TSB) com 6,5% de cloreto de sódio, seguido por subcultura de TSB em NaCl a 6,5% em ágar sangue (BA) e meio cromogénico seletivo para MRSA. A identificação de colónias presumíveis de *S. aureus* de BA e de colónias de MRSA a partir de placas de meio cromogénico foi confirmada através de coloração Gram, catalase e teste da coagulase. O MRSA foi confirmado por testes de suscetibilidade com um disco de cefoxitina (30 µg). O resultado do método de referência foi considerado positivo para MRSA se a presença de MRSA tenha sido confirmada na cultura direta ou na cultura enriquecida.

### Resultados obtidos com o teste Xpert MRSA NxG em comparação com o método de referência utilizando a zaragatoa em rayon

Foi testado um total de 1103 amostras de zaragatoa em rayon elegíveis pelo teste Xpert MRSA NxG e pelo método de referência. Relativamente ao método de referência, o teste Xpert MRSA NxG demonstrou uma sensibilidade e uma especificidade de 91,0% e 96,9%, respetivamente (Tabela 4). Para a população testada, o valor preditivo positivo (VPP) para MRSA foi de 78,7% e o valor preditivo negativo (VPN) foi de 98,9%.

**Tabela 4. Teste Xpert MRSA NxG com zaragatoa em rayon vs. método de referência**

	Método de referência			
	MRSA	Positivo	Negativa	Total
Xpert MRSA NxG	Positivo	111	30 <sup>a</sup>	141
	Negativa	11 <sup>b</sup>	951	962
	Total	122	981	1103
	Sensibilidade:		91,0% (IC de 95%: 84,6–94,9)	
Especificidade:		96,9% (IC de 95%: 95,7-97,8)		
VPP:		78,7% (IC de 95%: 71,3-84,7)		
VPN:		98,9% (IC de 95%: 98,0-99,4)		

<sup>a</sup> 30/30 amostras com resultados falsos positivos no Xpert MRSA NxG foram também negativas em cultura de MRSA, após repetição da subcultura do caldo de enriquecimento.

<sup>b</sup> 11/11 amostras com resultados falsos negativos no Xpert MRSA NxG foram também positivas em cultura de MRSA, após repetição da subcultura do caldo de enriquecimento.

### Resultados obtidos com o teste Xpert MRSA NxG em comparação com o método de referência utilizando a ESwab

Foi testado um total de 846 amostras de ESwab elegíveis pelo teste Xpert MRSA NxG e pelo método de referência. Relativamente ao método de referência, o teste Xpert MRSA NxG demonstrou uma sensibilidade e uma especificidade de 92,9% e 97,6%, respetivamente (Tabela 5). Para a população testada, o valor preditivo positivo (VPP) para MRSA foi de 83,5% e o valor preditivo negativo (VPN) foi de 99,1%.

**Tabela 5. Teste Xpert MRSA NxG com ESwab vs. método de referência**

	Método de referência			
	MRSA	Positivo	Negativa	Total
Xpert MRSA NxG	Positivo	91	18 <sup>a</sup>	109
	Negativa	7 <sup>b</sup>	730	737
	Total	98	748	846
	Sensibilidade:		92,9% (IC de 95%: 86,0-96,5)	
Especificidade:		97,6% (IC de 95%: 96,2-98,5)		
VPP:		83,5% (IC de 95%: 75,4-89,3)		
VPN:		99,1% (IC de 95%: 98,1-99,5)		

<sup>a</sup> 17/18 amostras com resultados falsos positivos no Xpert MRSA NxG foram também negativas para MRSA em cultura após repetição da subcultura do caldo de enriquecimento.

<sup>b</sup> 6/7 amostras com resultados falsos negativos no Xpert MRSA NxG foram também positivas em cultura de MRSA, após repetição da subcultura do caldo de enriquecimento.

## Resultados obtidos com o teste Xpert MRSA NxG em comparação com o método de referência para as zaragatoas em rayon e ESwab combinadas

A Tabela 6 mostra as análises de sensibilidade e especificidade dos resultados do teste Xpert MRSA NxG com a zaragatoa em rayon e ESwab combinadas em relação ao método de referência.

**Tabela 6. Teste Xpert MRSA NxG com zaragatoas em rayon e ESwab combinadas vs. método de referência**

	Método de referência <sup>a</sup>			
	MRSA	Positivo	Negativa	Total
Xpert MRSA NxG	Positivo	202	48	250
	Negativa	18	1681	1699
	Total	220	1729	1949
	Sensibilidade:		91,8% (IC de 95%: 87,4–94,8)	
Especificidade:		97,2% (IC de 95%: 96,3–97,9)		
VPP:		80,8% (IC de 95%: 75,5-85,2)		
VPN:		98,9% (IC de 95%: 98,3–99,3)		

<sup>a</sup> Utilizando os dados das Tabela 4 e Tabela 5, o teste exato de Fisher (valor  $p = 0,81$  para a sensibilidade e valor  $p = 0,46$  para a especificidade) demonstraram que os dados são acumuláveis em vários dispositivos de colheita (zaragatoa em rayon e ESwab).

## 19 Desempenho analítico

### 19.1 Sensibilidade analítica (limite de detecção)

Foram realizados estudos para determinar a sensibilidade analítica ou o limite de detecção (LoD) do teste Xpert MRSA NxG utilizando dois kits de colheita diferentes (o dispositivo de colheita de amostras da Cepheid ref. 900-0370 ou Copan ref. 139CFA, denominado “zaragatoa em rayon” e o kit de colheita ESwab, Copan ref. P/N 480C ou Becton Dickinson ref. 220245, denominado “ESwab”; consulte a Secção 6.3). O LoD é a concentração mais baixa de amostra (reportada em UFC/zaragatoa ou UFC/ml em reagente de eluição) que pode ser distinguida de forma reprodutível de amostras negativas 95% do tempo com 95% de confiança. Este estudo determinou a concentração mais baixa de células de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) diluídas num meio de matriz nasal simulada, que podem ser detetadas utilizando teste Xpert MRSA NxG. A matriz nasal simulada consistiu em mucina porcina a 5% (p/v) e sangue total humano a 1% (v/v) numa solução salina tamponada com fosfato 1X com 15% de glicerol (v/v).

A sensibilidade analítica do teste Xpert MRSA NxG foi avaliada seguindo as orientações do documento EP17-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) utilizando dois lotes de reagentes testados em três dias de testes com treze (13) estirpes de MRSA individuais e os dois tipos de zaragatoa (zaragatoa em rayon e ESwab). As 13 estirpes individuais representam os tipos I, II, III, IV, IVa, V, VI, VII, VIII, IX, X e XI da SCCmec. Estas estirpes do estudo do limite de detecção representam as estirpes de MRSA mais comumente adquirida em unidades de saúde (USA100) e a estirpe mais comumente adquirida em comunidades (USA400), tendo a sua caracterização sido feita por eletroforese de gel em campo pulsado (PFGE). Foram também incluídas no estudo estirpes que continham subpopulações heterogêneas em relação ao seu fenótipo de resistência à oxacilina.

O LoD foi estabelecido através de testes de cinco níveis de concentração com dois lotes de reagentes. O LoD e o intervalo de confiança (IC) de 95% foram depois calculados para cada lote com a análise de regressão logística. A análise de regressão logística não depende de uma única concentração, mas utiliza a função logit para incorporar informação de todos os níveis testados no modelo. As estimativas pontuais foram calculadas utilizando um método de estimativas de probabilidade máxima (MLE) dos parâmetros do modelo de regressão logística. O LoD estimado máximo observado por estirpe obtido a partir da análise de regressão logística foi utilizado para estabelecer o LoD pretendido. As estimativas pontuais do LoD e os intervalos de confiança de 95% superiores e inferiores para cada tipo de SCCmec de MRSA testado encontram-se resumidos nas tabelas a seguir.

Os resultados deste estudo indicam que o teste Xpert MRSA NxG irá produzir um resultado positivo para MRSA 95% das vezes, com 95% de confiança para uma zaragatoa nasal (Rayon) contendo 302 UFC (ver tabela a seguir).

Tabela 7. Intervalos de confiança de 95% para o LoD analítico — MRSA (zaragatoa em Rayon)

Estirpe de MRSA	ID na PFGE <sup>a</sup>	LoD estimado (regressão logística) (UFC/zaragatoa)			LoD estimado no reagente de eluição (UFC/ml)
		IC de 95% inferior	Estimativa pontual do LoD	IC de 95% superior	
Tipo I	USA500	72	91	136	46
Tipo II	USA100	127	161	236	81
Tipo III	Desconhecida	50	64	96	32
Tipo IVa	USA400	46	58	84	29
Tipo IV (Fin 7)	Desconhecida	256	302	392	151
Tipo IVa	USA300	143	182	282	91
Tipo V	USA1000	85	102	138	51
Tipo VI	USA800	32	42	64	21
Tipo VII	Desconhecida	95	128	235	64
Tipo VIII	Desconhecida	139	163	233	82
Tipo IX	Desconhecida	142	169	227	85
Tipo X	Desconhecida	86	97	119	49
Tipo XI (mecC)	Desconhecida	219	266	358	133

<sup>a</sup> PFGE = eletroforese em gel de campo pulsado

Os resultados deste estudo indicam que o teste Xpert MRSA NxG irá produzir um resultado positivo para MRSA 95% das vezes, com 95% de confiança para uma zaragatoa nasal (ESwab) contendo 812 UFC (ver a tabela a seguir).

Tabela 8. Intervalos de confiança de 95% para o LoD analítico — MRSA (ESwab)

Estirpe de MRSA	ID na PFGE <sup>a</sup>	LoD estimado (regressão logística) (UFC/zaragatoa)			LoD estimado no reagente de eluição (UFC/ml)
		IC de 95% inferior	Estimativa pontual do LoD	IC de 95% superior	
Tipo I	USA500	285	343	469	45
Tipo II	USA100	184	218	293	28
Tipo III	Desconhecida	215	254	338	33
Tipo IVa	USA400	134	167	245	22
Tipo IV (Fin 7)	Desconhecida	656	812	1145	106
Tipo IVa	USA300	470	563	733	73
Tipo V	USA1000	378	465	671	61
Tipo VI	USA800	71	89	128	12
Tipo VII	Desconhecida	201	245	338	32
Tipo VIII	Desconhecida	520	631	851	82
Tipo IX	Desconhecida	311	377	533	49

Estirpe de MRSA	ID na PFGE <sup>a</sup>	LoD estimado (regressão logística) (UFC/zaragatoa)			LoD estimado no reagente de eluição (UFC/ml)
		IC de 95% inferior	Estimativa pontual do LoD	IC de 95% superior	
Tipo X	Desconhecida	149	166	215	22
Tipo XI (mecC)	Desconhecida	597	734	998	96

<sup>a</sup> PFGE = eletroforese em gel de campo pulsado

## 19.2 Reatividade analítica (inclusividade)

Foram testadas neste estudo cento e noventa e seis estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina. As estirpes testadas representam os grupos de Cooper e Feil 1A, 1B e 2, tipos e subtipos de SCCmec (I, IA, II, III, IIIA, IV, IVa, IVb, IVc, IVd, V, VI, VII, VIII, IX, X e XI), tipos de sequência (ST), tipos de spa, tipos de PFGE e complexos clonais (CC). Foram igualmente incluídas neste estudo estirpes USA100, USA200, USA300, USA400, USA500, USA600, USA700, USA800, USA1000, USA1100, IBERIAN conhecidas, estirpes heterorresistentes e uma nova estirpe mecC MRSALGA251. Foi também incluído neste estudo um painel de desafio de 59 estirpes de MRSA bem caracterizadas com uma concentração inibitória mínima (CIM) para a cefoxitina/oxacilina que se estende pelo intervalo dinâmico mensurável. Os valores da CIM da oxacilina para estas 59 estirpes variaram entre 0,5 µg/ml e >32 µg/ml.

Todas as 196 estirpes de MRSA foram corretamente reportadas como **MRSA DETETADO (MRSA DETECTED)** utilizando o teste Xpert MRSA NxG.

## 19.3 Especificidade analítica (reatividade cruzada)

A especificidade analítica do teste Xpert MRSA NxG foi avaliada através de testes de um painel de cento e cinquenta e dois microrganismos potencialmente causadores de reatividade cruzada: *Staphylococcus aureus* suscetível à meticilina (MSSA), microrganismos filogeneticamente relacionados com *Staphylococcus aureus* (SA) e membros da microflora nasal comensal (p. ex., outras bactérias, vírus e leveduras) com o potencial para terem reatividade cruzada com o teste Xpert MRSA NxG. Os cento e cinquenta e dois microrganismos testados foram identificados como Gram-positivos (104), Gram-negativos (25), leveduras (3), vírus (17) ou reação Gram indeterminada (3). Destes microrganismos, oitenta e quatro foram caracterizados da seguinte forma: vinte e três (23) eram *Staphylococcus coagulase negativo* e suscetíveis à meticilina (MSCoNS), cinco (5) eram *Staphylococcus coagulase negativo* e resistentes à meticilina (MRCoNS), quarenta e sete (47) eram *Staphylococcus aureus* suscetíveis à meticilina (MSSA), incluindo dois (2) MSSA com cassete vazia, e sete (7) eram estirpes de *Staphylococcus aureus* com resistência borderline à oxacilina (BORSA). Também foram testadas neste estudo células humanas.

### Avaliação das estirpes BORSA

Foram testadas sete estirpes bem caracterizadas de *Staphylococcus aureus* com resistência limite à oxacilina (BORSA), incluindo uma estirpe MSSA de “cassete vazia”. O *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina é resistente a todos os fármacos β-lactâmicos (com exceção da ceftarolina) através da proteína de ligação à penicilina alternativa PBP2a, codificada pelo mecA ou mecC. As estirpes BORSA não têm o gene mecA/mecC, mas exibem uma concentração inibitória mínima (CIM) para a oxacilina  $\geq 2$  µg/ml e  $\leq 8$  µg/ml. A distinção entre MRSA e BORSA tem especial valor para ajudar a implementar as opções de precaução adequadas no controlo e isolamento de pacientes infetados com estirpes de *S. aureus* suscetíveis à meticilina. As estirpes BORSA testadas com o teste Xpert MRSA NxG foram reportadas como **MRSA NÃO DETETADO (MRSA NOT DETECTED)**.

Todos os microrganismos potencialmente causadores de reatividade cruzada foram testados em triplicado no reagente de eluição contendo matriz nasal simulada na concentração de  $>10^6$  UFC/ml para bactérias e de  $>10^5$  TCID50/ml para vírus. As células humanas foram testadas na concentração de  $10^5$  células/ml.

Todos os microrganismos e células humanas foram reportados como **MRSA NÃO DETETADO (MRSA NOT DETECTED)** pelo teste Xpert MRSA NxG. Para o painel de cento e cinquenta e dois microrganismos e células humanas potencialmente causadores de reação cruzada avaliados no estudo, a sensibilidade analítica do teste Xpert MRSA NxG foi de 100%.

A análise in silico indica que o teste Xpert MRSA NxG pode produzir resultados positivos com estirpes de *Staphylococcus argenteus*, uma espécie de *Staphylococcus* recentemente descrita, que se assemelha bastante ao *S. aureus*, que é portadora da cassete SCCmec e do gene *mecA* ou *mecC*.<sup>10</sup>

## 19.4 Interferência microbiana

Foi realizado um estudo para avaliar os efeitos inibitórios de microrganismos comensais em amostras de zaragatoa nasal sobre o desempenho do teste Xpert MRSA NxG. Um painel de nove (9) estirpes bacterianas, reportadas como estando presentes em 10% ou mais das cavidades nasais de indivíduos saudáveis<sup>11, 12</sup>, foi avaliado utilizando o teste Xpert MRSA NxG (ver a tabela a seguir).

**Tabela 9. Estirpes de bactérias comensais testadas em relação à interferência microbiana**

Estirpe	ID da estirpe
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	15280
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MSSE)	ATCC 35984
<i>Corynebacterium bovis</i>	ATCC 7715
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 25175
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 29905
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 9007
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 700111
<i>Moraxella catarrhalis</i>	ATCC 43628
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 6303

As nove bactérias comensais foram adicionadas à matriz nasal simulada numa concentração de aproximadamente  $1,0 \times 10^6$  UFC/ml em reagente de eluição e testadas na presença de MRSA (reatividade cruzada) ou na ausência de MRSA (interferência). Neste estudo, foram utilizadas duas estirpes de MRSA (ver a tabela a seguir) que foram preparadas a aproximadamente 3X LoD e testadas em réplicas de quatro. Nenhum dos microrganismos potencialmente interferentes avaliados no estudo foi considerado como tendo reação cruzada ou interferência com a detecção de qualquer uma das estirpes de MRSA utilizando o teste Xpert MRSA NxG.

**Tabela 10. Estirpes de MRSA**

Alvo	ID da estirpe
MRSA ( <i>mecA</i> )	MRSA Tipo II (NRSA70,N315)
MRSA ( <i>mecC</i> )	MRSA Tipo XI LGA251

## 19.5 Substâncias potencialmente interferentes

Foram avaliadas com o teste Xpert MRSA NxG dezanove substâncias potencialmente interferentes no desempenho do ensaio que podem estar presentes em amostras de zaragatoas nasais. As substâncias potencialmente interferentes incluíram muco, sangue humano, sprays ou gotas nasais, géis nasais, corticosteroides nasais, FluMist, anestésicos ou analgésicos nasais orais e antibióticos, antibacterianos e antivirais nasais. As substâncias, os princípios ativos e as concentrações testadas estão listados na tabela a seguir. Todas as substâncias interferentes, com exceção da mucina, foram inicialmente testadas em 50% (v/v) numa matriz nasal simulada para amostras negativas (apenas matriz simulada) e positivas para MRSA. A mucina foi testada a 7% (p/v) em matriz nasal simulada para amostras negativas (apenas matriz simulada) e positivas para MRSA.

Incluíram-se no estudo controlos tamponados (positivos e negativos) sem substâncias interferentes.

As amostras positivas foram testadas por substância interferente com duas estirpes MRSA clínicas, SCCmec Tipo II (*mecA*) e SCCmec Tipo XI (*mecCLGA251*), adicionadas em aproximadamente 3X o LoD analítico em matriz nasal simulada.

Foram avaliadas neste estudo réplicas de oito amostras positivas e negativas com cada substância interferente. Foram testadas amostras negativas na presença da substância potencialmente interferente para determinar o impacto no desempenho do controlo de processamento da amostra (SPC).

O efeito de cada substância potencialmente interferente em amostras positivas e negativas foi avaliado comparando os valores do limiar do ciclo (Ct) alvo gerados na presença da substância potencialmente interferente com os valores Ct dos controlos tamponados em que faltava a substância potencialmente interferente.

As amostras positivas e negativas para 16 substâncias potencialmente interferentes foram corretamente identificadas. Foram observados os efeitos potencialmente inibidores em amostras positivas testadas com Nasonex a 50% (v/v), Flonase a 50% (v/v) e Beconase a 40% (v/v) e a 50% (v/v) devido ao atraso nos valores de Ct; contudo, nenhuma das substâncias reportadas teve resultados de teste falsos negativos. Não foi observada nenhuma interferência em amostras positivas testadas com Nasonex a 40% (v/v), Flonase a 40% (v/v) e Beconase a 30% (v/v). Isto é abordado na Secção 16.

**Tabela 11. Substâncias nasais potencialmente interferentes testadas**

Substância	Princípio ativo	Concentração testada
Muco (mucina)	Mucina porcina representando proteínas densamente glicosiladas (muco)	7% (p/v)
Sangue	Sangue (humano)	50% (v/v)
Spray Aneferin descongestionante	Cloridrato de oximetazolina a 0,05%	50% (v/v)
Spray anti-histamínico de azelastina	Cloridrato de azelastina a 0,1%	50% (v/v)
Controlador de sintomas de alergia NasalCrom	5,2 mg de cromoglicato de sódio	50% (v/v)
Spray descongestionante Neo-Syneprine	Cloridrato de fenilefrina a 0,5%	50% (v/v)
Spray nasal hidratante de soro fisiológico	Cloreto de sódio a 0,65%	50% (v/v)
Gel nasal Zicam (alívio de sintomas de alergia das vias respiratórias superiores)	4x, 12x, 30x Luffa operculata 12x, 30x Galphimia glauca 12x, 30x, 200x Histaminum hydrochloricum 12x, 30x, 200x Enxofre	50% (v/v)
Nasonex (medicação para sintomas de alergia nasal, esteroide nasal inalado)	Monidrato de furoato de mometasona a 0,05%	40%(v/v), 50% (v/v) <sup>a</sup>
Flonase	Propionato de fluticasona a 0,05%	40% (v/v), 50% (v/v) <sup>a</sup>
FluMist	Vacina intranasal viva do vírus da gripe	50% (v/v)
Finafte Multioral	Benzocaína a 7,5%	50% (v/v)
TobraDex	Tobramicina a 0,3%, dexametasona a 0,1%	50% (v/v)
Bactroban	Mipurocina a 2%	50% (v/v)
Relenza	Zanamivir 5 mg	50% (v/v)

Substância	Princípio ativo	Concentração testada
Beconase® AQ	0,05% ou $3,6 \times 10^{-5}$ g de beclometasona	30% (v/v), 40% (v/v) <sup>a</sup> , 50% (v/v) <sup>a</sup>
Nasacort® AQ	0,06% ou $4,4 \times 10^{-5}$ g de acetono de triamcinolona	50% (v/v)
Rhinocort aqua®	0,06% ou $4,4 \times 10^{-5}$ g de budesonida	50% (v/v)
Spray nasal de flunisolida USP, 0,025%	0,03% ou $1,9 \times 10^{-5}$ g de flunisolida	50% (v/v)

<sup>a</sup> Efeito potencialmente inibidor observado para a concentração testada devido ao atraso nos valores de Ct.

## 19.6 Estudo de contaminação por transferência

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência de amostras negativas testadas no mesmo módulo GeneXpert após amostras positivas para MRSA muito elevadas. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert imediatamente após uma amostra muito positiva. As amostras negativas para MRSA eram compostas por MSSE preparado numa matriz nasal simulada numa concentração  $\geq 1,0 \times 10^7$  UFC/ml em reagente de eluição. As amostras positivas para MRSA eram compostas por MRSA numa matriz nasal simulada numa concentração  $\geq 1 \times 10^7$  UFC/ml em reagente de eluição. O esquema de teste foi repetido 40 vezes entre 2 instrumentos GeneXpert (um módulo por instrumento) para um total de 41 execuções por instrumento (20 amostras positivas altas por instrumento e 21 amostras negativas por instrumento). Todas as 40 amostras positivas foram corretamente reportadas como **MRSA DETETADO (MRSA DETECTED)**. Todas as 42 amostras negativas foram corretamente reportadas como **MRSA NÃO DETETADO (MRSA NOT DETECTED)**.

## 20 Reprodutibilidade

Um painel de cinco amostras com concentrações variáveis de MRSA foi testado quatro vezes por dia em seis dias diferentes por dois operadores diferentes, em três locais (5 amostras x 4 vezes/dia x 6 dias x 2 operadores x 3 locais). Foram utilizados três lotes de cartuchos do teste Xpert MRSA NxG, cada um representando dois dias de teste. O teste Xpert MRSA NxG foi efetuado de acordo com o procedimento do teste Xpert MRSA NxG. Cada uma das 5 amostras foi preparada numa matriz nasal simulada aos níveis de concentração apresentados na Tabela 12. Os resultados encontram-se resumidos na Tabela 13.

Tabela 12. Painel de reprodutibilidade

Amostra do painel	Nível de concentração
Neg.	Verdadeiro negativo (sem alvo)
Posmod1, MRSA Tipo XI (mecC)	Moderado positivo (~2-3 x LoD)
Posbaix1, MRSA Tipo XI (mecC)	LoD (~1 x LoD)
Posmod2, MRSA Tipo II (mecA)	Moderado positivo (~2-3 x LoD)
Posbaix2, MRSA Tipo II (mecA)	LoD (~1 x LoD)

**Tabela 13. Resumo dos resultados da reprodutibilidade:  
% de concordância por local/operador do estudo**

Amostra	Local 1			Local 2			Local 3			% de concordância total por amostra
	Op. 1	Op2	Local	Op. 1	Op2	Local	Op. 1	Op2	Local	
Neg.	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
Posmod1	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
Posbaix1	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
Posmod2	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
Posbaix2	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	98,6% (142/144)

A reprodutibilidade do teste Xpert MRSA NxG também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct para cada alvo detetado. A média, o desvio-padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) entre locais, entre dias, entre lotes, entre operadores e dentro do ensaio para cada membro do painel são apresentados na Tabela 14.

**Tabela 14. Resumo dos dados da reprodutibilidade#reproducibility/FTH\_8<sup>a</sup>**

Amostra	Canal de ensaio (analito)	N <sup>b</sup>	Ct médio	Entre centros		Entre dias		Entre lotes		Entre operadores		Intra-ensaio		Total	
				DP	CV(%) <sup>c</sup>	DP	CV(%) <sup>c</sup>	DP	CV(%) <sup>c</sup>	DP	CV(%) <sup>c</sup>	DP	CV(%) <sup>c</sup>	DP	CV(%) <sup>c</sup>
Neg.	SPC	144	32,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0,3	0,8	0,8	2,3	0,8	2,6
Posmod1	mec	144	29,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,4	0,0	0,0	1,1	3,5	1,1	3,8
	SCC	144	32,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	1,0	3,0	1,1	3,3
Posbaix1	mec	144	31,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,4	0,0	0,0	1,0	3,2	1,1	3,5
	SCC	144	34,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	0,9	2,7	1,1	3,1
Posmod2	mec	144	31,2	0,0	0,0	0,3	0,9	0,2	0,5	0,0	0,0	0,9	3,0	1,0	3,1
	SCC	144	32,8	0,0	0,0	0,3	0,8	0,3	1,0	0,0	0,0	0,9	2,7	1,0	3,0
Posbaix2	mec	144	32,7	0,0	0,0	0,4	1,1	0,0	0,0	0,2	0,6	1,0	3,0	1,1	3,2
	SCC	144	34,4	0,0	0,0	0,4	1,1	0,0	0,0	0,1	0,3	1,0	3,0	1,1	3,3

<sup>a</sup> Registaram-se no total 12 resultados indeterminados ao longo do estudo (11 reportados como "Erro" e 1 como "Inválido"). Todos os 12 resultados de teste produziram resultados válidos após a repetição.

<sup>b</sup> Resultados com valores do Ct diferentes de zero em 144.

<sup>c</sup> (%) é a contribuição do componente de variância para o CV global.

## 21 Referências

1. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004. *Am J Infect Control* 2004; 32:470–485.
2. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of endemic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Medical Assoc.* 282(19):1745–1751.
3. Das I, O'Connell N, Lambert P. 2007. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. 1: *J Hosp Infect.* 65(2):117–123.
4. Shopsis B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis.* 7(2):323–326.
5. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. *Cleveland Clinic J Med.* 72(3):235–241.
6. Jain R, et al. 2011. Veterans Affairs Initiative to Prevent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *N Engl J Med* 364:1419–1430.
7. Centers for Disease Control and Prevention. 1993. *Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories* (consultar a edição mais recente). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Guideline aprovada.* Document M29 (consultar a edição mais recente).
9. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 16 de Dezembro de 2008, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
11. Argudin et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016 35: 1017-1022.
12. Jousimies-Somer HR, Savolainen S, Ylikoski JS. 1989. Comparison of the nasal bacterial floras in two groups of healthy subjects and in patients with acute maxillary sinusitis. *J Clin Microbiol.* 27(12): 2736-2743.
13. Todar K. <http://textbook of bacteriology.net/normalflora.html>.

## 22 Locais das sedes da Cepheid

### Sede empresarial

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

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

### Sede europeia

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

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

## 23 Assistência técnica

### Antes de nos contactar

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 de software e, caso se aplique, número de Etiqueta de serviço (Service Tag) do computador

### Estados Unidos da América

Telefone: + 1 888 838 3222  
E-mail: techsupport@cepheid.com

### França

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

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us)

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em [www.cepheid.com/en/support/support/order-management](http://www.cepheid.com/en/support/support/order-management).

## 24 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Marcação CE – Conformidade Europeia
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Não utilizar mais de uma vez
	Código do lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para $n$ testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Atenção
	Representante autorizado na Suíça
	Importador



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefone: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301



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



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



## 25 Histórico de revisões

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