

Xpert® MRSA

REF GXMRSA-100N-10

REF GXMRSA-120

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

KWIK-STIK[™] is a trademark of Microbiologics, Inc.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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 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 © 2008-2023 Cepheid. All rights reserved.

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

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

KWIK-STIK[™] é uma marca comercial da Microbiologics, Inc.

Windows[®] é uma marca registada da Microsoft Corporation.

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 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 © 2008-2023 Cepheid. Todos os direitos reservados.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Phone: +1 408 541 4191
Fax: +1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Phone: +33 563 825 300
Fax: +33 563 825 301

Xpert[®] MRSA

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome proprietário

Xpert[®] MRSA

2 Nome comum ou usual

Ensaio Xpert MRSA

3 Utilização prevista

O ensaio Xpert MRSA da Cepheid realizado no sistema GeneXpert[®] Dx (Xpert MRSA) é um teste qualitativo para diagnóstico *in vitro* concebido para a rápida deteção de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) a partir de zaragatoas nasais de doentes em risco de colonização nasal. O teste utiliza a reação em cadeia da polimerase (PCR) automática em tempo real para detetar o ADN de MRSA. O ensaio Xpert MRSA destina-se a ajudar na prevenção e controlo de infeções por MRSA em estabelecimentos de cuidados de saúde. O ensaio Xpert MRSA não se destina ao diagnóstico de MRSA, nem à orientação ou à monitorização do tratamento de infeções por MRSA. Apenas são necessárias culturas concomitantes para colheita de organismos para tipagem epidemiológica ou testes de suscetibilidade suplementares.

4 Resumo e explicação

O *Staphylococcus aureus* (SA) é um importante agente patogénico nosocomial que provoca diversas doenças, incluindo endocardite, osteomielite, síndrome de choque tóxico, intoxicação alimentar, carbúnculos e furúnculos. No início da década de 1950, a aquisição e propagação de plasmídeos produtores de beta-lactamase prejudicou a eficácia da penicilina no tratamento de infeções por *S. aureus*. Em 1959, foi introduzida a meticilina, uma penicilina sintética. Por volta de 1960, foram identificadas estirpes de *S. aureus* resistentes à meticilina. Determinou-se que isto resultou da aquisição do gene *mecA* pelo *S. aureus*. Atualmente, nos EUA, o MRSA é responsável por aproximadamente 25% das infeções nosocomiais e os relatos de MRSA adquirido em comunidades estão a aumentar, resultando em morbidade e mortalidade significativas. Na tentativa de limitar a disseminação destas infeções, estão a ser desenvolvidas e implementadas estratégias e políticas de controlo em estabelecimentos de saúde. O controlo do MRSA é um dos principais objetivos da maioria dos programas de controlo de infeções em hospitais. Atualmente, o método padrão para detetar MRSA é a cultura, que é um método muito trabalhoso e moroso.^{1,2,3,4,5} Um método mais rápido e sensível para a vigilância do MRSA representará uma definitiva vantagem para os programas de controlo de infeções.

5 Princípio do procedimento

O sistema GeneXpert Dx 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 RT-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 GeneXpert descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorre o processo de PCR. Como os cartuchos são autónomos, a contaminação cruzada entre amostras é eliminada. Para uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

O ensaio Xpert MRSA inclui reagentes para a deteção de MRSA, bem como um controlo de processamento da amostra (SPC) 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) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do fluoróforo.

Os iniciadores e as sondas no ensaio Xpert MRSA detetam uma sequência exclusiva para a presença de uma cassette inserida no cromossoma de *S. aureus*.

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



O kit Xpert MRSA (GXMRSA-100N-10) contém reagentes suficientes para o processamento de 10 amostras ou amostras de controlo de qualidade. Os kits Xpert MRSA (GXMRSA-120 e GXMRSA-CE-120) contém reagentes suficientes para o processamento de 120 amostras ou amostras de controlo de qualidade.

Os kits contêm os seguintes artigos:

Cartuchos do ensaio Xpert MRSA com tubos de reação integrados

| | 10 | 120 |
|--|------------------------|------------------------|
| • Esfera 1, Esfera 2, e Esfera 3 (liofilizadas) ~6000 esporos não-infeciosos de controlo de preparação da amostra | 1 de cada por cartucho | 1 de cada por cartucho |
| • Reagente 1 (hidróxido de sódio) | 3,0 ml por cartucho | 3,0 ml por cartucho |
| • Reagente 2 | 3,0 ml por cartucho | 3,0 ml por cartucho |

Bolsa de reagentes Xpert MRSA

| | 10 | 120 |
|---|------------------------|-------------------------|
| Reagente de eluição (tiocianato de guanidina) | 1 | 1 |
| CD | 10 x 1,5 ml por frasco | 120 x 1,5 ml por frasco |
| | 1 | 1 |

- Ficheiros de definição do ensaio (ADF — assay definition files)
- Instruções para importar ADF para o software
- Instruções de utilização (folheto informativo)

Nota

As Fichas de Dados de Segurança (SDS, Safety Data Sheets) estão disponíveis em www.cepheid.com ou 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 entre 2 °C e 28 °C.
- Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.
- Não abra um cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilize nenhum reagente que esteja turvo ou que apresente alteração da cor.

6.3 Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema GeneXpert Dx (o número de catálogo varia consoante a configuração): instrumento GeneXpert, computador, lápis ótico para leitura de códigos de barras e manual do utilizador
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte o Representante de Vendas da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Dispositivo para colheita de amostras Cepheid (referência 900-0370)
- Agitador de vórtice
- Pipetas de transferência estéreis, descartáveis
- Gaze estéril

6.4 Materiais disponíveis mas não fornecidos

KWIK-STIK™ da MicroBioLogics, n.º de catálogo 0158 MRSA como controlo positivo e n.º de catálogo 0371 MSSE (*Staphylococcus epidermidis* sensível à meticilina) como controlo negativo.

7 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 CDC (Centers for Disease Control and Prevention)⁶ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.⁷
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- As amostras biológicas, os dispositivos de transferência e os cartuchos usados devem ser considerados como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos, exigindo precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde). Consulte os técnicos responsáveis pelos resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados.
- O ensaio Xpert MRSA não fornece resultados de suscetibilidade. É necessário tempo adicional para cultura e para realizar testes de suscetibilidade.
- Não substitua os reagentes Xpert MRSA por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho Xpert MRSA, exceto ao adicionar a amostra.
- 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 MRSA é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- Conserve o kit Xpert MRSA entre 2 °C e 28 °C



8 Perigos químicos^{8,9}

- 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 as mãos 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.
 - Tratamento específico, ver informação de primeiros-socorros suplementar.
 - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
 - 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.
 - **Armazenamento/Eliminação**
 - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

9 Colheita e transporte das amostras



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

1. Abra o dispositivo para colheita Cepheid, destacando a embalagem exterior.
2. Peça ao doente para inclinar a cabeça para trás. Insira as zaragatoas secas aproximadamente 1 a 2 cm dentro de cada narina.
3. Rode as zaragatoas contra o interior da narina durante 3 segundos. Aplique uma ligeira pressão com um dedo no exterior do nariz para ajudar a assegurar um bom contacto entre a zaragatoa e o interior do nariz.
4. Utilizando as mesmas zaragatoas, repita para a segunda narina, tentando tocar apenas no interior do nariz.
5. Retire o tubo para transporte plástico. Remova a tampa do tubo e deite-a fora. Coloque as zaragatoas dentro do tubo para transporte plástico. As zaragatoas deverão ficar completamente dentro do tubo até ficarem em cima da esponja no fundo do tubo. Certifique-se de que a tampa vermelha está bem apertada. As zaragatoas deverão estar sempre fixas à tampa vermelha.
6. Etiquete o tubo para transporte plástico com a ID do doente e envie-o para o laboratório.
7. Conserve a amostra em zaragatoa à temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) se será processada dentro de 24 horas; caso contrário, conserve entre 2 °C e 8 °C. A amostra em zaragatoa ficará estável até 5 dias quando conservada entre 2 °C e 8 °C.

10 Procedimento

10.1 Preparação do cartucho

Importante Inicie o teste dentro de 15 minutos após a amostra ter sido adicionada ao cartucho.

Nota Utilize apenas uma das zaragatoas. A segunda zaragatoa é necessária para repetir o teste.

Para adicionar a amostra ao cartucho (Xpert MRSA):

1. Retire o cartucho e o reagente de eluição do kit.
2. Retire as zaragatoas do recipiente de transporte e depois retire uma zaragatoa da tampa vermelha.
3. Insira a zaragatoa no tubo contendo o reagente de eluição.
4. Utilize gaze estéril para minimizar os riscos de contaminação.
5. 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.
6. Feche a tampa e coloque no agitador de vórtice na velocidade máxima durante 10 segundos.
7. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência estéril, transfira todo o conteúdo do reagente de eluição para a câmara de amostra (Figura 1) do cartucho GeneXpert.
8. Feche a tampa do cartucho.

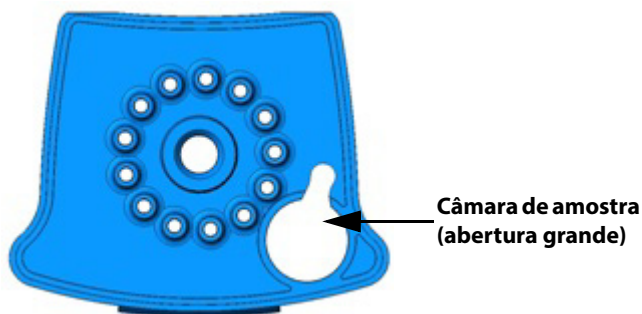


Figura 1. Cartucho Xpert MRSA (vista de cima).

10.2 Iniciar o teste

Importante Antes de iniciar o teste, certifique-se de que a definição do ensaio Xpert MRSA foi importada para o software GeneXpert

Esta secção discrimina os passos básicos para executar o teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

1. Ligue o computador e depois ligue o instrumento GeneXpert Dx.
2. No ambiente de trabalho do Windows®, faça duplo clique no ícone de atalho GeneXpert Dx.
3. Inicie sessão no software do sistema GeneXpert Dx utilizando o seu nome de utilizador e senha.
4. Na janela do sistema GeneXpert Dx, clique em **Criar teste (Create Test)**. Aparece a caixa de diálogo Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode).
5. Realize a leitura do código de barras do cartucho Xpert MRSA. Aparece a janela Criar teste (Create Test). Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: Selecionar ensaio (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).
6. Na caixa ID da amostra (Sample ID), leia ou digite a ID da amostra. Assegure-se de que introduz a ID da amostra correta. A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela Ver resultados (View Results) e em todos os relatórios.
7. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que aparece.
8. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
9. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz verde desliga-se.
10. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho.
11. Elimine os cartuchos usados no recipiente apropriado para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

10.3 Visualização e impressão de resultados

Para obter instruções detalhadas sobre como visualizar e imprimir os resultados, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

11 Controlo de qualidade

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

CONTROL

Controlo de processamento da amostra (SPC - Sample Processing Sample) — assegura que a amostra foi processada corretamente. 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 do MRSA. O SPC verifica se ocorreu lise do MRSA, se os organismos estão presentes e 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 fluorocromo. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

Controlos externos — Pode ser usado o KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, n.º de catálogo 0158 MRSA como controlo positivo e n.º 0371 MSSE como controlo negativo) para formação, testes de proficiência e CQ externo do sistema GeneXpert Dx. Podem ser utilizados controlos externos de acordo com organizações de acreditação locais, estatais e federais, consoante aplicáveis. Siga o procedimento de controlo externo da MicroBioLogics descrito abaixo:

1. Rasgue a bolsa pelo entalhe e retire o KWIK-STIK.
2. Aperte o fundo da ampola na tampa para libertar o fluido hidratante.
3. Segure verticalmente e bata levemente com o dedo para facilitar o fluxo de fluido através da haste para o fundo da unidade que contém a microesfera.
4. Para facilitar a dissolução da microesfera de células liofilizadas, esmague a microesfera e aperte suavemente a câmara inferior.
5. Desmonte o KWIK-STIK para libertar a zaragatoa e insira-a no tubo que contém o reagente de eluição.
6. A zaragatoa KWIK-STIK está agora pronta para o teste Xpert MRSA.

12 Interpretação dos resultados

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

| Resultado | Interpretação |
|-------------------------------|--|
| MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE) | <p>ADN-alvo de MRSA detetado (presumido positivo para colonização por MRSA).</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA — POSITIVO (MRSA — POSITIVE): O alvo de MRSA tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. SPC — NA (não aplicável) (SPC — NA (not applicable)): O SPC é ignorado, dado que a amplificação do MRSA poderá competir com este controlo. Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS): Aprovados todos os resultados de verificação da sonda. |
| MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE) | <p>ADN-alvo de MRSA não detetado (presumido não colonizado por MRSA); o SPC cumpre os critérios de aceitação.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA — NEGATIVO (MRSA — NEGATIVE): ADN-alvo de MRSA não detetado. SPC — APROVADO (SPC — 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 (Probe Check — PASS): Aprovados todos os resultados de verificação da sonda. |
| INVÁLIDO (INVALID) | <p>A presença ou ausência de MRSA não pode ser determinada; repita o teste com uma zaragatoa extra. O SPC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR está inibida.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA — INVÁLIDO (MRSA — INVALID): A presença ou ausência de ADN de MRSA não pode ser determinada. SPC — FALHOU (SPC — FAIL): O resultado do alvo de MRSA é negativo e o Ct (limiar de ciclo) do SPC não está dentro do intervalo válido e o endpoint (ponto final) é inferior à definição mínima. Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS): Aprovados todos os resultados de verificação da sonda. |
| ERRO (ERROR) | <p>A presença ou ausência de MRSA não pode ser determinada; repita o teste com uma zaragatoa extra. O controlo de verificação da sonda falhou, provavelmente devido a um tubo de reação que não foi enchido adequadamente, a um problema de integridade da sonda ou porque os limites de pressão máxima foram excedidos.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA — SEM RESULTADO (MRSA — NO RESULT) SPC — SEM RESULTADO (SPC — NO RESULT) Verificação da sonda — FALHA (Probe Check — FAIL*); todos ou um dos resultados de verificação da sonda falharam. <p>* Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.</p> |
| SEM RESULTADO (NO RESULT) | <p>A presença ou ausência de MRSA não pode ser determinada; repita o teste com uma zaragatoa extra. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste (por exemplo, o utilizador parou um teste que estava em curso).</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA — SEM RESULTADO (MRSA — NO RESULT) SPC — SEM RESULTADO (SPC — NO RESULT) Verificação da sonda — NA (não aplicável) (Probe Check — NA (not applicable)) |

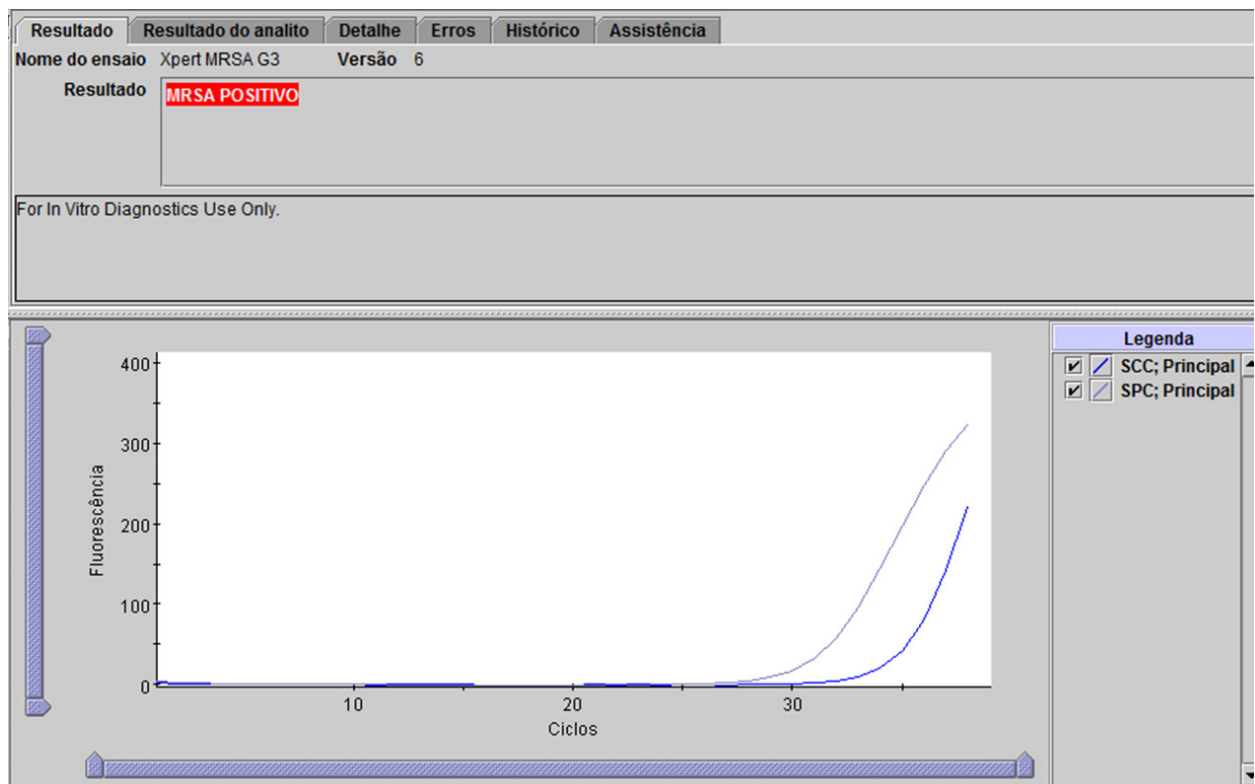


Figura 2. Exemplo de um resultado MRSA POSITIVO

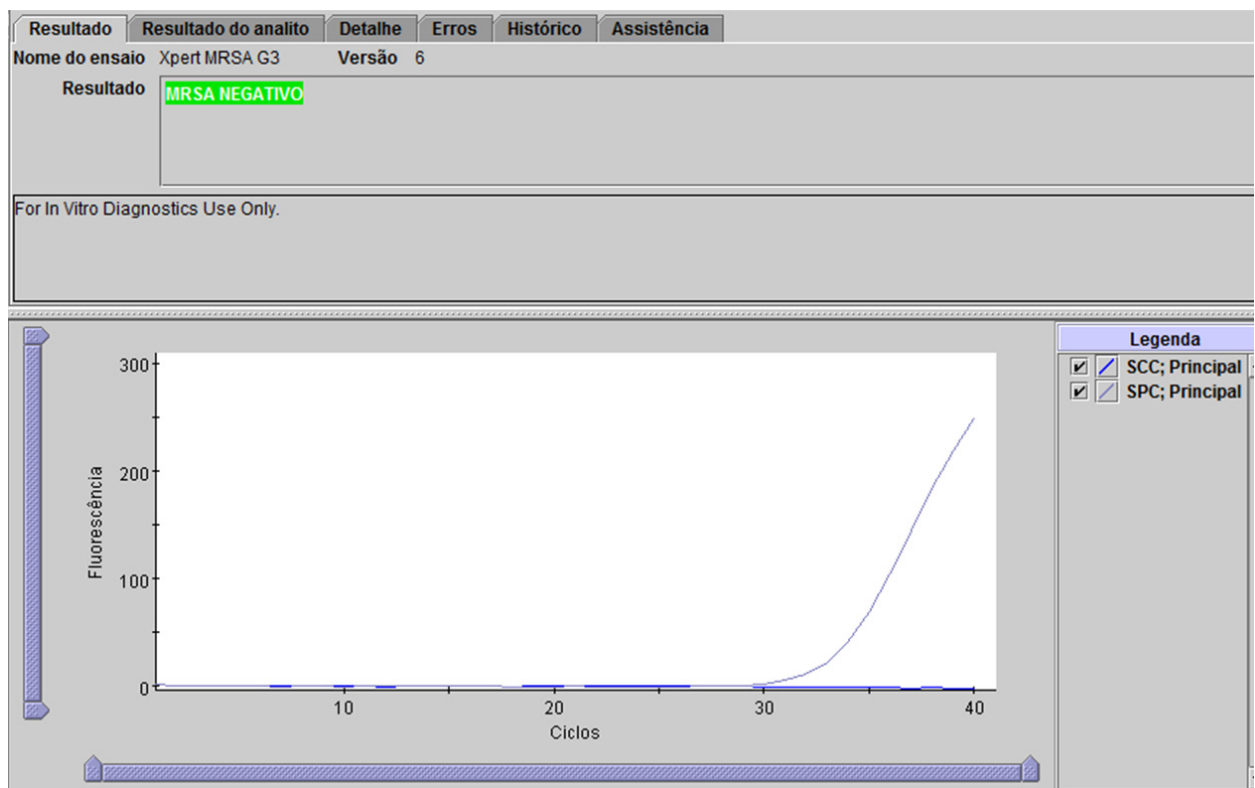


Figura 3. Exemplo de um resultado MRSA NEGATIVO

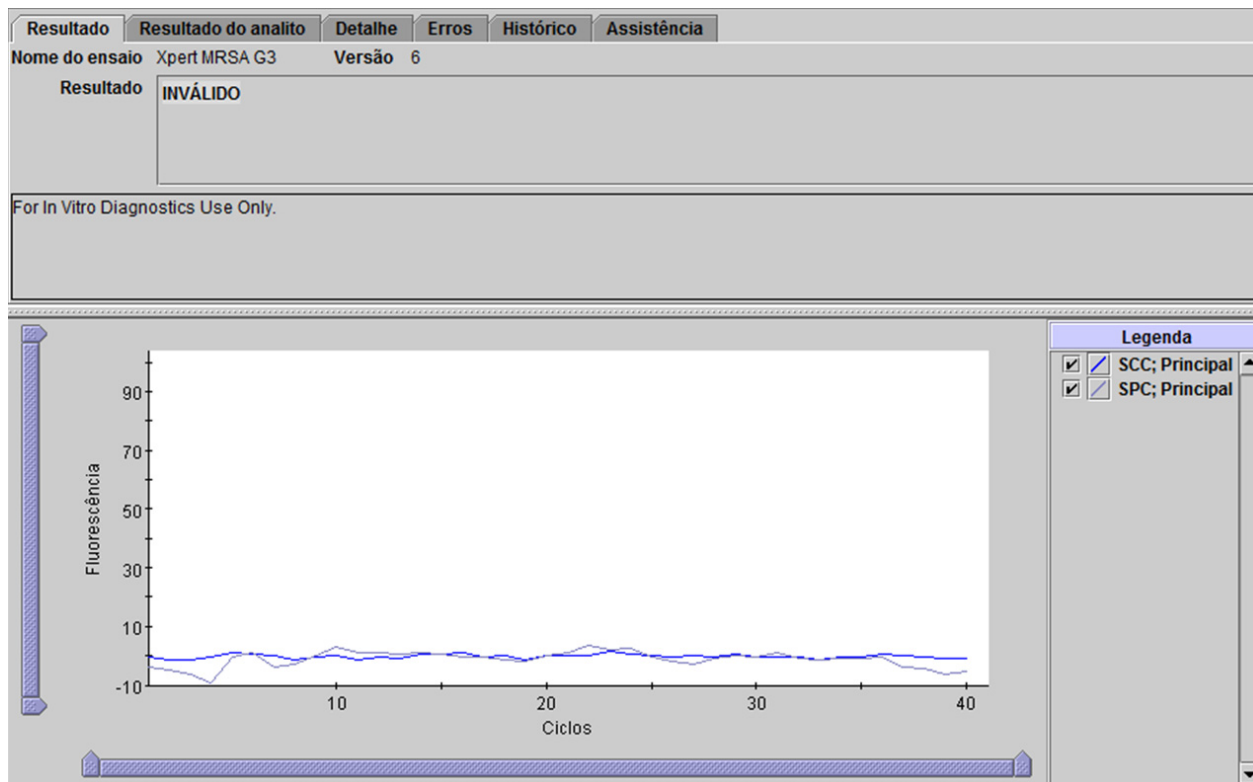


Figura 4. Exemplo de um resultado INVÁLIDO

13 Motivos para repetir o ensaio

Repita o teste utilizando um novo cartucho e novo reagente de eluição (não reutilize o cartucho) ou inicie procedimentos alternativos se ocorrer um dos seguintes resultados de 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.

14 Limitações

- O desempenho do ensaio Xpert MRSA 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 MRSA deverão ser interpretados em conjunção com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- O desempenho do ensaio Xpert MRSA não foi avaliado em pacientes com idade inferior a dois anos.
- Amostras de zaragatoa nasal obtidas de doentes recém-nascidos com elevados números de estafilococos coagulase negativa contendo o gene *mecA* podem produzir resultados falsos positivos devido à presença de uma sequência *SCC_{mec}*.
- Resultados de teste incorretos poderão ser originados por colheita de amostras inadequada, não seguimento dos procedimentos recomendados para recolha, manuseamento ou conservação de amostras, erro técnico, troca de amostras ou porque o número de organismos da amostra não é detetado pelo teste. O cumprimento cuidadoso das instruções deste folheto é necessário para evitar resultados errados.
- Como a deteção de MRSA depende do número de organismos presentes na amostra, os resultados fidedignos dependem da correta colheita, manuseamento e conservação da amostra.

- Voltar a processar o Xpert MRSA 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 (por ex., cultura utilizando placas de ágar seletivas com ou sem incubação durante uma noite num meio líquido de enriquecimento seletivo). 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 MRSA.
- Os testes com o ensaio Xpert MRSA deverão ser utilizados como adjuvantes a outros métodos disponíveis.
- Os resultados dos testes poderão ser também afetados por terapia antibiótica concomitante. Por conseguinte, o sucesso ou insucesso terapêutico não pode ser avaliado com este teste porque o ADN pode persistir após a terapia antimicrobiana.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador (primer) ou da sonda poderão afetar a deteção de variantes de MRSA novas ou desconhecidas, originando um resultado falso negativo.

15 Substâncias que interferem

Substâncias potencialmente interferentes avaliadas incluem sangue, muco e sprays nasais utilizados para aliviar a congestão, secura ou irritação nasal. A presença destas substâncias não inibiu significativamente a PCR e não originou resultados inválidos ou incorretos.

No estudo de investigação do ensaio Xpert MRSA foram relatadas potenciais substâncias interferentes (sangue, muco ou ambos) em 45 de 1077 (4,2%) amostras de zaragatoa nasal. Das 31 amostras que apresentaram um resultado equívoco no teste inicial, três continham muco e uma continha sangue na zaragatoa. Três das quatro amostras apresentaram um resultado na repetição do teste, enquanto uma que continha muco permaneceu indeterminada.

16 Valores esperados

No estudo clínico do Xpert MRSA, foi recolhido um total de 1077 amostras nasais de 1077 sujeitos em 7 locais participantes nos EUA. A população do estudo foi agrupada em sujeitos em lares ou instalações de estadia prolongada, hospitalizados durante mais de 3 dias, hospitalizados durante 3 ou menos dias, clínica de cuidados ambulatoriais e profissionais e outros. O número e a percentagem de casos positivos e negativos em relação ao método de cultura de referência são calculados e apresentados na tabela abaixo.

Tabela 1. Valores de MRSA esperados para os estudos das diferentes populações

| Grupo | N positivo (%) | N negativo (%) | Total (%)^a |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------------|
| Lares, instalações de cuidados de longa duração e de estadia prolongada | 62 (25,5) | 181 (74,5) | 243 (22,6) |
| Hospitalizados >3 dias | 61 (23,0) | 204 (77,0) | 265 (24,7) |
| Hospitalizados = 3 dias | 29 (13,1) | 193 (86,9) | 222 (20,7) |
| Clínica de cuidados ambulatoriais | 46 (17,7) | 214 (82,3) | 260 (24,2) |
| Profissionais e outros | 11 (12,9) | 74 (87,1) | 85 (7,9) |
| Total | 209 (19,4) | 866 (80,6) | 1075 |

a. Desconhecem-se as datas de admissão de dois sujeitos hospitalizados com cultura positiva.

17 Características do desempenho

17.1 Desempenho clínico

As características do desempenho do ensaio Xpert MRSA foram determinadas num estudo multicêntrico de investigação prospetiva em sete instituições, comparando o ensaio MRSA no sistema GeneXpert (ensaio Xpert MRSA) com um segundo teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) aprovado pela FDA e cultura enriquecida, o método de cultura mais sensível. Os sujeitos incluíram indivíduos e profissionais médicos em risco de colonização nasal. Cada sujeito foi inscrito no estudo apenas uma vez. A recolha de zaragatoa nasal estava contraindicada em sujeitos que tivessem recebido antibióticos sistémicos ou nasais tópicos num período entre 48 horas e uma semana antes da inscrição no estudo e com idade inferior a 2 anos, tendo estes sujeitos sido excluídos do estudo. Só foram inscritos aqueles sujeitos em conformidade com os critérios de inclusão e exclusão.

Foram recolhidas zaragatoas nasais de cada sujeito. Uma zaragatoa foi testada pelo ensaio Xpert MRSA e outra pelo segundo teste de NAAT aprovado pela FDA. Os dois tipos de testes de NAAT foram realizados em cada instituição participante e uma zaragatoa adicional foi enviado para um laboratório central para teste de cultura.

No laboratório central, foi feita uma cultura em riscas da zaragatoa numa placa de ágar cromogénica seletiva com cefoxitina e a placa foi incubada durante 24 a 48 horas a 35 °C ±2 °C. A zaragatoa foi transferida para meio líquido de tripticase de soja (TSB) com 6,5% de cloreto de sódio, incubado durante 18 a 24 horas a 35 °C ±2 °C. Se a cultura por riscas direta era negativa às 24 horas, o TSB enriquecido foi cultivado em risca noutra placa de ágar cromogénica com cefoxitina, incubada durante 24 a 48 horas a 35 °C ±2 °C. A confirmação de colónias presumivelmente positivas em cada método de cultura foi realizada com coagulase em tubo e coloração de Gram.

O desempenho do ensaio Xpert MRSA e do segundo teste NAAT aprovado pela FDA foi calculado em relação aos resultados de cultura do laboratório central (cultura de referência).

17.2 Resultados totais

Foi testado um total de 1077 sujeitos elegíveis para MRSA (uma amostra por doente) pelo Xpert MRSA e por um 2.º teste de NAAT aprovado pela FDA e cultura. O Xpert MRSA identificou 86,3% das amostras como positivas para MRSA e 94,9% das amostras como negativas para MRSA em relação ao método de cultura de referência. Para os sujeitos testados, o valor preditivo positivo foi de 80,5% e o valor preditivo negativo foi de 96,6%.

Tabela 2. Comparação do Xpert MRSA com o método de cultura de referência

| | | Cultura | | | |
|------------|---|---------|-----|-------------------|------------------------------|
| | | + | - | | |
| Xpert MRSA | + | 182 | 44 | 226 | Concordância positiva: 86,3% |
| | - | 29 | 819 | 848 | Concordância negativa: 94,9% |
| | | 211 | 863 | 1074 ^a | VPP ^b : 80,5% |
| | | | | | VPN ^c : 96,6% |

- a. Três amostras não apresentaram resultados Xpert em duas tentativas.
b. Valor preditivo positivo
c. Valor preditivo negativo

Quando comparado com o método de cultura direta (zaragatoas diretamente cultivadas em risca em placas de ágar cromogénicas seletivas com cefoxitina sem enriquecimento TSB e incubadas durante 24 a 48 horas a 35 ±2 °C), o Xpert MRSA identificou 94,3% das amostras positivas para MRSA e 93,2% das amostras negativas para MRSA; o valor preditivo positivo foi de 73,0% e o valor preditivo negativo foi de 98,8%.

Tabela 3. Comparação do Xpert MRSA com o método de cultura direta

| | | Cultura direta | | | |
|------------|---|----------------|-----|------|------------------------------|
| | | + | - | | |
| Xpert MRSA | + | 165 | 61 | 226 | Concordância positiva: 94,3% |
| | - | 10 | 838 | 848 | Concordância negativa: 93,2% |
| | | 175 | 899 | 1074 | VPP ^a : 73,0% |
| | | | | | VPN ^b : 98,8% |

- a. Valor preditivo positivo
b. Valor preditivo negativo

As tabelas seguintes mostram o desempenho do Xpert MRSA e a prevalência de MRSA em cada local clínico, comparado com os métodos de cultura de referência e cultura direta.

Tabela 4. Comparação do desempenho do Xpert MRSA por local com o método de cultura de referência

| Local | Prevalência de MRSA ^a | Concordância positiva (n) (IC de 95%) ^b | Concordância negativa (n) (IC de 95%) ^c | N.º de resultados indeterminados |
|--------------|----------------------------------|--|--|----------------------------------|
| 1 | 20,2% (78/387) | 87,2% (n=78) (77,7-93,7%) | 93,9% (n=309) (90,6-96,3%) | 10 |
| 2 | 5,2% (3/58) | 100,0% (n=3) (29,2-100,0%) | 98,2% (n=55) (90,3-100,0%) | 3 |
| 3 | 44,4% (12/27) | 91,7% (n=12) (61,5-99,8%) | 100,0% (n=15) (78,2-100,0%) | 3 |
| 4 | 12,3% (20/162) | 80,0% (n=20) (56,3-94,3%) | 97,2% (n=142) (92,9-99,2%) | 9 |
| 5 | 20,5% (46/224) | 89,1% (n=46) (76,4-96,4%) | 94,9% (n=178) (90,6-97,7%) | 1 |
| 6 | 22,3% (42/188) | 81,0% (n=42) (65,9-91,4%) | 93,2% (n=146) (87,8-96,7%) | 6 |
| 7 | 35,7% (10/28) | 90,0% (n=10) (55,5-99,8%) | 94,4% (n=18) (72,7-99,9%) | 2 |
| Total | 19,6% (211/1074) | 86,3% (n=211) (80,9-90,6%) | 94,9% (n=863) (93,2-96,3%) | 34 |

a. Determinada com resultados obtidos pelo método de cultura de referência

b. Número de positivos determinado pelo método de cultura de referência

c. Número de negativos determinado pelo método de cultura de referência

Tabela 5. Desempenho do Xpert MRSA por local – comparação com o método de cultura direta

| Local | Concordância | |
|--------------|---------------------------|---------------------------|
| | Concordância positiva | Concordância negativa |
| 1 | 95,4% (87,1-99,0%) | 92,2% (88,8-94,9%) |
| 2 | 100,0% (29,2-100,0%) | 98,2% (90,3-100,0%) |
| 3 | 91,7% (61,5-99,8%) | 100,0% (78,2-100,0%) |
| 4 | 81,3% (54,4-96,0%) | 95,2% (90,4-98,1%) |
| 5 | 94,9% (82,7-99,4%) | 93,0% (88,3-96,2%) |
| 6 | 97,1% (84,7-99,9%) | 92,9% (87,6-96,4%) |
| 7 | 100,0% (54,1-100,0%) | 81,8% (59,7-94,8%) |
| Total | 94,3% (89,7-97,2%) | 93,2% (91,4-94,8%) |

São apresentados nas tabelas abaixo os desempenhos do Xpert MRSA, do 2.º NAAT aprovado pela FDA e do método de cultura direta de locais individuais em relação ao método de cultura de referência.

Tabela 6. Resultados do Xpert MRSA, método de cultura direta e segundo teste NAAT aprovado pela FDA em amostras positivas para MRSA pelo método de cultura de referência

| Concordância positiva (IC de 95%) | | | |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Local | Xpert MRSA | 2.º NAAT | Cultura direta ^a |
| 1 | 87,2% (77,7-93,7%) | 80,8% (70,3-88,8%) | 83,3% (73,2-90,8%) |
| 2 | 100,0% (29,2-100,0%) | 100,0% (29,2-100,0%) | 100,0% (29,2-100,0%) |
| 3 | 91,7% (61,5-99,8%) | 83,3% (51,6-97,9%) | 100,0% (73,5-100,0%) |
| 4 | 80,0% (56,3-94,3%) | 78,9% (54,4-93,9%) | 80,0% (56,3-94,3%) |
| 5 | 89,1% (76,4-96,4%) | 89,1% (76,4-96,4%) | 84,8% (71,1-93,7%) |
| 6 | 81,0% (65,9-91,4%) | 78,6% (63,2-89,7%) | 81,0% (65,9-91,4%) |
| 7 | 90,0% (55,5-99,7%) | 100,0% (69,2-100,0%) | 60,0% (26,2-87,8%) |
| Total | 86,3% (80,9-90,6%) | 83,3% (77,6-88,1%) | 82,9% (77,2-87,8%) |

a. Zaragatoas diretamente cultivadas em risca em placas de ágar cromogénicas seletivas com cefoxitina e incubadas durante 24 a 48 horas a 35 ±2 °C.

Tabela 7. Resultados do Xpert MRSA, método de cultura direta e segundo teste NAAT aprovado pela FDA em amostras negativas para MRSA pelo método de cultura de referência

| Concordância negativa (IC de 95%) | | | |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Local | Xpert MRSA | 2.º NAAT | Cultura direta ^a |
| 1 | 93,9% (90,6-96,3%) | 92,2% (88,7-95,0%) | 100,0% (98,8-100,0%) |
| 2 | 98,2% (90,3-100,0%) | 98,2% (90,3-100,0%) | 100,0% (93,6-100,0%) |
| 3 | 100,0% (78,2-100,0%) | 100,0% (79,4-100,0%) | 100,0% (79,4-100,0%) |
| 4 | 97,2% (92,9-99,2%) | 97,9% (93,9-99,6%) | 100,0% (97,5-100,0%) |
| 5 | 94,9% (90,6-97,7%) | 93,8% (89,2-96,9%) | 100,0% (97,9-100,0%) |
| 6 | 93,2% (87,8-96,7%) | 94,5% (89,5-97,6%) | 100,0% (97,5-100,0%) |
| 7 | 94,4% (72,7-99,9%) | 94,4% (72,7-99,9%) | 100,0% (81,5-100,0%) |
| Total | 94,9% (93,2-96,3%) | 94,4% (92,7-95,9%) | 100,0% (99,6-100,0%) |

a. Zaragatoas diretamente cultivadas em risca em placas de ágar cromogénicas seletivas com cefoxitina e incubadas durante 24 a 48 horas a 35 ±2 °C.

18 Especificidade analítica

Foram testadas culturas de 51 estirpes representando espécies filogeneticamente relacionadas com o *S. aureus* e membros da flora nasal comensal da American Type Culture Collection (ATCC) e da Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA), 32 estirpes de estafilococos sensíveis à meticilina e coagulase-negativos e 12 estirpes de estafilococos resistentes à meticilina e coagulase-negativos. Foram testadas três réplicas de cada isolado a =1 × 10⁶ UFC/zaragatoa. Nenhum destes isolados foi detetado pelo ensaio. A especificidade era de 100%.

19 Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica do Xpert MRSA foi determinada utilizando 6 estirpes de MRSA representando os 6 tipos e subtipos de *SCCmec* (I, II, III, IV, IVa e V). As culturas destas estirpes foram quantificadas e depois diluídas em valores abrangendo o intervalo de 10 a 1000 unidades formadoras de colónias (UFC) por zaragatoa. Todas as diluições foram testadas em réplicas de 4. O limite de deteção obtido para cada tipo ou subtipo testado mostra o número mais baixo de UFC/zaragatoa em relação ao qual as 4 réplicas foram indicadas como positivas. Todas as estirpes representando os tipos de cassete de *SCCmec* I a V foram detetadas pelo ensaio Xpert MRSA.

Tabela 8. Deteção do tipo *SCCmec*

| SCCmec | (UFC/ zaragatoa) |
|----------|---------------------|
| tipo I | 10 |
| tipo II | 10 |
| tipo III | 10 |
| tipo V | 10 |
| tipo IV | 50 |
| tipo IVa | 100 |

Foram realizados estudos adicionais utilizando células de tipo II para determinar o intervalo de confiança de 95% para o limite de deteção (LoD) analítico deste ensaio. O limite de deteção é definido como o número mais baixo de unidades formadoras de colónias (UFC) de MRSA por zaragatoa que pode ser continuamente reproduzido e distinguido de amostras negativas com 95% de confiança. Os resultados indicam que o Xpert MRSA produz um resultado positivo com 95% de confiança para uma zaragatoa contendo 80 UFC.

20 Reprodutibilidade

Foi testado um painel de amostras com concentrações variáveis de MRSA e *Staphylococcus epidermidis* sensível à metilina (negativo) em triplicado em 10 dias diferentes em cada um dos três locais (4 amostras × 3 vezes/dia × 10 dias × 3 locais). Foi utilizado um lote do kit Xpert MRSA em cada um dos 3 locais de teste. Os ensaios Xpert MRSA foram realizados de acordo com o procedimento Xpert MRSA.

Tabela 9. Resumo dos resultados de reprodutibilidade

| ID da amostra | MRSA em UFC/zaragatoa | MSSE UFC/ zaragatoa | Local 1 | Local 2 | Local 3 | Concordância total | % de concordância total |
|--------------------|--------------------------|------------------------|---------|---------|--------------------|-----------------------|-------------------------------|
| Negativo | 0 | $2,6 \times 10^6$ | 30/30 | 30/30 | 30/31 ^a | 90/91 | 98,9% |
| Positivo fraco | 117 | $2,6 \times 10^6$ | 30/30 | 30/30 | 27/29 ^a | 87/89 | 97,8% |
| Positivo | 800 | $2,6 \times 10^6$ | 30/30 | 30/30 | 30/30 | 90/90 | 100,0% |
| Positivo forte | $2,6 \times 10^4$ | $2,6 \times 10^6$ | 30/30 | 30/30 | 30/30 | 90/90 | 100,0% |
| Concordância total | | | 120/120 | 120/120 | 117/120 | 357/360 | 99,2% |
| % de concordância | | | 100,0% | 100,0% | 97,5% | | |

a. O ensaio Xpert MRSA foi realizado inadvertidamente numa amostra negativa adicional e em uma amostra positiva menos fraca.

21 Referências

1. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, CJ, Vanessa A. Diaz VA. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in the United States, 2001-2002. *An Family Medicine*. 2006;4(2):132-137.
2. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004;32:470-85.
3. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *JAMA* 1999;282(19):1745-51.
4. Shopsin B, Kreiswirth BN. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases* 2001;7(2) 323-6.
5. Salgado CD et al. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. *CID* 2003;36:131.
6. 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.
7. 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).
8. REGULATION (EC) 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 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
9. 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 de software e, caso se aplique, número de 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.

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em <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> |
|  | Não reutilizar |
|  | Código do lote |
|  | Consulte as instruções de utilização |
|  | Cuidado |
|  | Fabricante |
|  | País de fabrico |
|  | Conteúdo suficiente para <n> testes |
|  | Controlo |
|  | Prazo de validade |
|  | Marca CE – Conformidade Europeia |
|  | Representante autorizado na Comunidade Europeia |
|  | Mandatário na Suíça |
|  | Importador |
|  | Limites de temperatura |
|  | Riscos biológicos |
|  | Atenção |



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



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



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



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

