

Xpert® MTB/RIF



GXMTB/RIF-10



GXMTB/RIF-50

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.
Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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 © 2011-2023 Cepheid. All rights reserved.

Declarações relativas a marcas comerciais, patentes e copyright

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid.
Windows[®] é uma marca comercial da Microsoft Corporation.

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 © 2011-2023 Cepheid. Todos os direitos reservados.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Suécia

Tel.: +46 8 6843 7000
Fax: +46 8 6843 7010

Assistência Técnica: TechSupport@cepheid.com

Xpert® MTB/RIF

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

Nome proprietário

Ensaio Xpert® MTB/RIF

Nome comum ou usual

Ensaio Xpert MTB/RIF

A. Utilização prevista

O ensaio Xpert MTB/RIF, para utilização com os sistemas GeneXpert® da Cepheid, é um teste de diagnóstico *in vitro* de PCR “nested” em tempo real, semiquantitativo, para a deteção de:

- ADN do complexo *Mycobacterium tuberculosis* em amostras de expetoração não processadas ou em sedimentos concentrados preparados a partir de expetoração induzida ou espontânea positivas ou negativas para esfregaço de bacilos-ácidoresistentes (BAR).
- Mutações associadas à resistência à rifampicina do gene *rpoB* em pacientes em risco de resistência à rifampicina.

O ensaio Xpert MTB/RIF destina-se a ser utilizado com amostras de pacientes não tratados com suspeita clínica de tuberculose (TB). A utilização do ensaio Xpert MTB/RIF para a deteção de *M. tuberculosis* (MTB) ou determinação de suscetibilidade à rifampicina não foi validada para pacientes que estejam a receber tratamento para a tuberculose.

B. Resumo e explicação

Cerca de 2 mil milhões de pessoas a nível global encontram-se infetadas pelo MTB.¹ Todos os anos, quase 9 milhões de pessoas desenvolvem a doença ativa e 2 milhões de pessoas morrem devido a esta doença. A MTB ativa, cuja natureza é, predominantemente pulmonar, é uma doença altamente infecciosa transmitida por via aérea. Dada a natureza infecciosa da MTB, o diagnóstico rápido e preciso é um elemento importante no controlo e tratamento da MTB.

O tratamento envolve a administração prolongada de múltiplos fármacos e é normalmente muitíssimo eficaz. Todavia, as estirpes de MTB podem desenvolver resistência a um ou mais fármacos, fazendo com que a cura seja muito mais difícil de alcançar. Os quatro fármacos de primeira linha habitualmente usados na terapia anti-tuberculose são:

- Isoniazida (INH)
- Rifampicina (RIF)
- Etambutol (EMB)
- Pirazinamida (PZA)

A resistência à RIF raramente ocorre de forma isolada e normalmente indica resistência a diversos outros fármacos anti-TB.² A resistência à RIF é detetada com mais frequência em estirpes multirresistentes (TB-MR), tendo uma frequência reportada superior a 95% nestes isolados.^{3,4,5} A TB-MR é definida como sendo uma doença causada por uma estirpe bacteriana resistente, pelo menos, à INH e à RIF. A resistência à RIF ou a outro fármaco de primeira linha normalmente é indicadora da necessidade de testes de suscetibilidade completos, incluindo o teste de agentes de segunda linha.

A deteção molecular da MTB e das mutações do gene *rpoB* associadas à resistência à RIF acelera o diagnóstico da tuberculose suscetível a fármacos e da TB-MR. Com o ensaio Xpert MTB/RIF, tal pode ser conseguido em amostras de expetoração frescas e em sedimentos preparados em menos de 2,5 horas. A rápida deteção de MTB e da resistência à RIF permite ao médico tomar decisões críticas relativamente à terapia do paciente, durante uma única consulta.

C. Princípio do procedimento

Os sistemas do instrumento GeneXpert automatizam e integram o processamento, a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas utilizando PCR em tempo real e transcriptase reversa. O sistema é composto por um instrumento, um computador, um leitor de códigos de barras e software pré-instalado para efetuar testes em amostras colhidas e visualizar 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. Dado que os cartuchos são independentes, a contaminação cruzada entre amostras é eliminada. Para obter uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*.

O Xpert MTB/RIF inclui reagentes para a detecção de resistência a MTB e RIF, bem como um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC) para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e para monitorizar a presença de inibidores na reação PCR. O controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

Os iniciadores no ensaio Xpert MTB/RIF amplificam uma parte do gene *rpoB* que contém a região “core” com 81 pares de bases. As sondas têm a capacidade de diferenciar entre a sequência conservada do tipo selvagem e mutações na região core que estão associadas com a resistência à RIF.

D. Reagentes e instrumentos

D.1 Materiais fornecidos



O kit Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-10) contém reagentes suficientes para processar 10 amostras de pacientes ou de controlo de qualidade e o kit Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-50) contém reagentes suficientes para processar 50 amostras de pacientes ou de controlo de qualidade. O kit Xpert MTB/RIF contém os seguintes itens:

Cartuchos do ensaio Xpert MTB/RIF com tubos de reação integrados	10 por kit	50 por kit
• Esfera 1 e Esfera 2 (liofilizadas)	2 de cada por cartucho	2 de cada por cartucho
• Esfera 3 (liofilizada)	1 por cartucho	1 por cartucho
• Reagente 1	4,0 ml por cartucho	4,0 ml por cartucho
• Reagente 2	4,0 ml por cartucho	4,0 ml por cartucho
Frascos de reagente de amostra	10 por kit	50 por kit
• Reagente de amostra (SR)	8 ml por frasco	8 ml por frasco
• Hidróxido de sódio		
• Isopropanol		
Pipetas de transferência descartáveis	12 por kit	60 por kit
CD	1 por kit	1 por kit
• Ficheiro de definição do ensaio (ADF — Assay Definition File)		
• Instruções para importar o ADF para o software		
• Instruções de utilização (folheto informativo)		

Nota A solução do reagente de amostra (SR) é límpida, incolor a amarela dourada.

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

Nota A seroalbumina bovina (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.

Nota As pipetas de transferência contêm uma marca única que representa o volume mínimo de amostra tratada que é necessário transferir para o cartucho. Utilize unicamente para este fim. Todas as outras pipetas devem ser fornecidas pelo laboratório.

D.2 Conservação e manuseamento



- Conservar o conteúdo do kit Xpert MTB/RIF a uma temperatura 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.
- Os cartuchos encontram-se estáveis até um período máximo de 6 semanas entre 2 °C e 45 °C após a abertura da bolsa.

E. Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema GeneXpert Dx ou Sistema GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): instrumento GeneXpert, computador, leitor de códigos de barras e manual do utilizador
 - Para o sistema GeneXpert Dx: versão de software 4.0 ou superior
 - Para o sistema GeneXpert Infinity-48: software Xpertise versão 4.3 ou posterior
 - Para sistemas GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: software Xpertise versão 6.0 ou posterior
- Impressora: caso necessite de uma impressora, contacte o Representante de Vendas da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Recipientes de colheita de amostras estanques, estéreis e de tampa roscada
- Luvas descartáveis e proteção ocular
- Rótulos e/ou marcador permanente para rotulagem
- Pipetas estéreis para o processamento de amostras

F. Advertências, precauções e perigos químicos

F.1 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
- Use luvas descartáveis de proteção, bata de laboratório e proteção ocular durante o manuseamento de amostras e reagentes. Lave muito bem as mãos após o manuseamento das amostras e dos reagentes do teste.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- O desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF para a deteção do complexo de MTB não foi demonstrado a partir de amostras não respiratórias, tais como sangue, LCR, fezes ou urina. O desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF não foi avaliado com amostras processadas por outros métodos além dos descritos neste folheto informativo.
- Quando processar mais do que uma amostra simultaneamente, abra apenas um cartucho; adicione a amostra tratada com reagente de amostra e feche a tampa do cartucho antes de processar a próxima amostra. Trocar de luvas entre as amostras.
- Não abra a tampa do cartucho Xpert MTB/RIF, exceto quando adicionar a amostra tratada.
- Não utilize um cartucho que tenha caído depois de o ter retirado do kit.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou que foi agitado ou cujo conteúdo foi derramado depois de ter adicionado a amostra tratada. Agitar ou deixar cair o cartucho depois da abertura da tampa pode produzir resultados falsos ou indeterminados.
- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho do ensaio Xpert MTB/RIF é utilizado para processar um teste. Não reutilizar cartuchos processados.
- Consulte os regulamentos da sua região/país relativos à eliminação de resíduos perigosos e médicos. Se os regulamentos não fornecerem indicações claras sobre uma eliminação adequada das amostras ou de cartuchos utilizados, estes devem ser tratados como capazes de transmitir doenças infecciosas. Proceda à eliminação dos cartuchos usados como resíduos químicos de saúde perigosos em recipientes para resíduos duradouros de acordo com as normas orientadoras relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial de Saúde).



F.2 Perigos químicos^{8,9}**Reagente de amostra:**

O reagente de amostra contém hidróxido de sódio (pH > 12,5) e isopropanol.

- Pictogramas de perigo GHS da ONU: 
- Palavra-sinal: PERIGO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Líquido e vapor inflamáveis
 - Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves
 - Provoca lesões oculares graves
 - Suspeito de provocar anomalias genéticas.
 - Suspeito de afetar a fertilidade ou o nascituro.
 - Pode afetar os órgãos após exposição prolongada ou repetida
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
 - Prevenção
 - Pedir instruções específicas antes da utilização.
 - Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
 - Manter afastado do calor, faísca, chama aberta e/ou superfícies quentes. Não fumar.
 - Manter o recipiente bem fechado.
 - Não respirar névoas, vapores e/ou aerossóis.
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
 - Usar o equipamento de proteção individual exigido.
 - Resposta
 - Em caso de incêndio: para a extinção utilizar os meios adequados.
 - EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.
 - Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): despir/retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche.
 - Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar.
 - Tratamento específico, ver informação de primeiros-socorros suplementar.
 - 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.
 - EM CASO DE INGESTÃO: Enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito.
 - EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.
 - Em caso de indisposição, consulte um médico.
 - Armazenamento/Eliminação
 - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

G. Colheita, transporte e conservação de amostras



Pode processar sedimentos ressuspensos ou expetoração recente com este ensaio. Consulte Tabela 1 para definir o volume adequado da amostra.

Tabela 1. Volume adequado da amostra

Tipo de amostra	Volume mínimo para um teste	Volume total mínimo para testar ou repetir o teste
Sedimento de expetoração	0,5 ml	1 ml
Expetoração recente	1 ml	2 ml

Nota Para obter uma amostra de expetoração fresca adequada, siga fielmente as instruções desta secção. O paciente deve estar sentado ou em pé.

G.1 Conservação e transporte



Transporte e conserve as amostras entre 2 °C e 8 °C antes do processamento, sempre que possível. Contudo, se necessário, as amostras podem ser conservadas a uma temperatura máxima de 35 °C por ≤ 3 dias e entre 2 °C e 8 °C por 4 a 10 dias.

G.2 Procedimento de colheita de amostras

1. Peça ao paciente para lavar a boca duas vezes com água.
2. Abra a tampa do recipiente de colheita de expetoração.
3. Peça ao paciente para inspirar profundamente, tossir vigorosamente e expelir o material para o recipiente. Evite derramar o material ou sujar o exterior do recipiente.
4. Fixe bem a tampa do dispositivo de colheita e, de seguida, envie o recipiente para a zona de processamento.

H. Procedimentos do ensaio

H.1 Preparar os sedimentos de expetoração

Nota Rejeite amostras que contenham partículas de alimentos visíveis ou outras partículas sólidas.

Requisitos de volume: Os sedimentos de expetoração preparados de acordo com o método de Kent e Kubica¹⁰ e ressuspensos em tampão fosfato/H₂O 67 mM podem ser testados utilizando o ensaio Xpert MTB/RIF. Depois da ressuspensão, reserve pelo menos 0,5 ml do sedimento ressuspensionado para o ensaio Xpert MTB/RIF.

1. Identifique cada cartucho Xpert MTB/RIF com a ID da amostra. Consulte Figura 1.

Nota Escreva na parte lateral do cartucho ou coloque um rótulo de identificação. Não coloque o rótulo na tampa do cartucho nem cubra o código de barras 2D existente no mesmo.

2. Transfira, pelo menos, 0,5 ml do total da microesfera ressuspensionada para um tubo cónico com tampa roscada para o Xpert MTB/RIF utilizando uma pipeta de transferência. Em alternativa, pode processar a totalidade da amostra no tubo original.



Nota Conserve os sedimentos ressuspensionados entre 2 °C e 8 °C, caso não sejam processados de imediato. Não conserve durante mais de 12 horas.

3. Utilizando uma pipeta de transferência, transfira 1,5 ml de reagente de amostra (SR) do Xpert MTB/RIF para 0,5 ml de sedimento ressuspensionado.
4. Agite vigorosamente 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.

Nota Um movimento para a frente e para trás corresponde a uma única agitação.

5. Incube durante 10 minutos à temperatura ambiente e, depois, agite vigorosamente a amostra 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.
6. Proceda à incubação da amostra à temperatura ambiente durante mais 5 minutos.

H.2 Preparar a amostra de expetoração expelida

Nota Rejeite amostras que contenham partículas de alimentos visíveis ou outras partículas sólidas.

1. Identifique cada cartucho Xpert MTB/RIF com a ID da amostra. Consulte Figura 1.

Nota Escreva na parte lateral do cartucho ou coloque um rótulo de identificação. Não coloque o rótulo na tampa do cartucho nem cubra o código de barras 2D existente no mesmo.



Figura 1. Escreva no cartucho com uma caneta de marcação permanente

2. Num recipiente de colheita de expetoração estanque:
 - A. Abra cuidadosamente a tampa do recipiente de colheita de expetoração.



Figura 2. Abrir o recipiente da amostra

- B. Verta cerca de 2 vezes o volume do reagente de amostra na expetoração (diluição 2:1, SR:expetoração).

Nota Deposite o reagente de amostra remanescente e o frasco num recipiente para resíduos químicos.

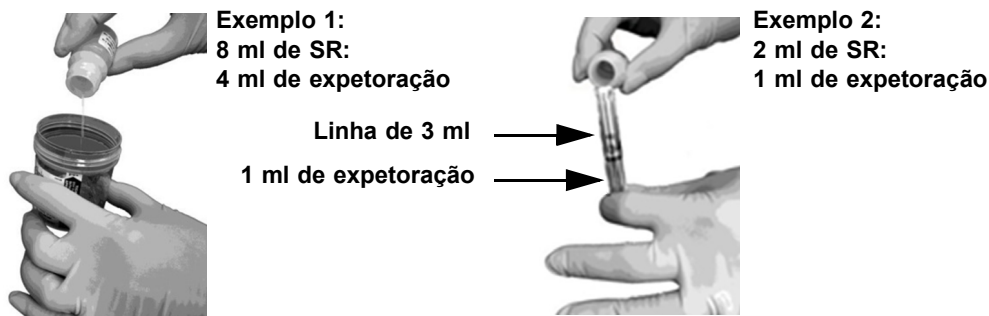


Figura 3. Exemplos de diluições 2:1

- C. Recoloque e aperte bem a tampa.
 - D. Agite vigorosamente 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.

Nota Um movimento para a frente e para trás corresponde a uma única agitação.

3. Incube a amostra durante 10 minutos à temperatura ambiente, e depois agite vigorosamente a amostra 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.
4. Proceda à incubação da amostra à temperatura ambiente durante mais 5 minutos.

H.3 Preparação do cartucho

Nota

Se utilizar o sistema GeneXpert Dx, inicie o teste dentro de 4 horas após a adição da amostra ao cartucho. Se utilizar um sistema GeneXpert Infinity, certifique-se de que inicia o teste e coloca o cartucho no tapete rolante no prazo de 30 minutos após a adição da amostra tratada com reagente de amostra ao cartucho. O prazo de validade restante é registado pelo software Xpertise de modo a que os testes sejam executados antes do final do período de quatro horas no instrumento.

1. Abra a tampa do cartucho e depois abra o recipiente da amostra.
2. Usando a pipeta de transferência fornecida, aspire a amostra liquefeita até à linha na pipeta. Não prossiga com o processamento da amostra no caso de o volume ser insuficiente. Consulte Figura 4.



Figura 4. Aspirar até à linha na pipeta

3. Transfira a amostra para a câmara da amostra do cartucho Xpert MTB/RIF. Distribua a amostra lentamente para minimizar o risco de formação de aerossol. Consulte Figura 5.



Figura 5. Distribuir a amostra liquefeita descontaminada na câmara da amostra do cartucho

4. Feche a tampa do cartucho firmemente.

Importante

Se utilizar um sistema GeneXpert Dx, certifique-se de que coloca o cartucho no instrumento e inicia o teste no prazo de 4 horas após a preparação do cartucho. Se utilizar um sistema GeneXpert Infinity, certifique-se de que inicia o teste e coloca o cartucho no tapete rolante no prazo de 30 minutos após a adição da amostra tratada com reagente de amostra ao cartucho. O prazo de validade restante é registado pelo software Xpertise de modo a que os testes sejam executados antes do final do período de quatro horas no instrumento.

H.4 Iniciar o teste

Importante

Certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio (Assay Definition File, ADF) do Xpert MTB/RIF foi 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*.

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 e, de seguida, o computador. O software GeneXpert iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.

ou

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

ou

No caso do instrumento GeneXpert Dx:

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

H.5 Eliminar cartuchos usados

1. Elimine os cartuchos usados num recipiente rígido para detritos com risco biológico de acordo com as práticas padrão da sua instituição. Consulte Figura 6.



Figura 6. Elimine os cartuchos utilizados da forma apropriada

2. Não queime cartuchos usados. Consulte Figura 7.



Figura 7. Não queime cartuchos usados

3. Não elimine cartuchos usados num aterro ou lixeira. Consulte Figura 8.



Figura 8. Não elimine cartuchos usados num aterro

H.6 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 *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do modelo utilizado.

Nota

Se estiver a emitir o relatório de resultados utilizando um LIS, confirme que os resultados do LIS correspondem aos resultados do sistema para o campo ID do paciente (Patient ID); se os resultados estiverem em conflito, emita o relatório apenas dos resultados do sistema.

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

I. Controlo de qualidade

CONTROL

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

SPC: Assegura que a amostra foi corretamente processada. O SPC contém esporos não infecciosos, sob a forma de um bolo seco de esporos que está incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado do MTB. O SPC verifica se ocorreu a lise do MTB se os organismos estiverem presentes e verifica se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição associada à amostra do ensaio de PCR em tempo real.

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. O resultado do teste será **INVÁLIDO (INVALID)** se o SPC não for detetado num teste negativo.

PCC: Antes do início da reação PCR, o sistema do instrumento 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. O PCC é aprovado se cumprir os critérios de aceitação validados.

J. Interpretação dos resultados

O sistema do instrumento GeneXpert produz os resultados a partir dos sinais fluorescentes medidos e de algoritmos de cálculo incorporados. Os resultados podem ser vistos na janela Ver resultados (View Results). Consulte as Figura 9, Figura 10, Figura 11 para obter exemplos específicos e consulte a Tabela 2 para obter uma lista de todos os resultados possíveis.

Tabela 2. Resultados e Interpretações do ensaio Xpert MTB/RIF

Resultado	Interpretação
MTB DETETADO MÉDIO; Rif Resistance NÃO DETETADO (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED) Consulte Figura 9.	O alvo de MTB está presente dentro da amostra: <ul style="list-style-type: none"> • Uma mutação no gene rpoB foi detetada dentro do intervalo delta Ct válido. • SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal do SPC pois a amplificação do MTB pode competir com este controlo. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MTB DETETADO BAIXO; Rif Resistance DETETADO (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED) Consulte Figura 10.	O alvo de MTB está presente dentro da amostra: <ul style="list-style-type: none"> • Não foi detetada qualquer mutação no gene rpoB. • SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal do SPC pois a amplificação do MTB pode competir com este controlo. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Tabela 2. Resultados e Interpretações do ensaio Xpert MTB/RIF

Resultado	Interpretação
MTB DETETADO; Rif Resistance INDETERMINADO (RIF Resistance INDETERMINATE)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> A resistência à RIF não pode ser determinada devido à insuficiente deteção do sinal. SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal do SPC pois a amplificação do MTB pode competir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS). todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MTB não detetado (MTB Not Detected) Consulte Figura 11.	<p>O alvo de MTB não é detetado dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: APROVADO (PASS). O SPC preenche os critérios de aceitação. Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
INVÁLIDO (INVALID)	<p>Não foi possível determinar a presença ou ausência do MTB. O SPC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida. Repita o teste. Consulte Secção J.2, Procedimento de repetição do teste.</p> <ul style="list-style-type: none"> MTB INVÁLIDA (INVALID): Não foi possível determinar a presença ou ausência de ADN de MTB. SPC: FALHOU (FAIL). O resultado do alvo de MTB é negativo e o Ct do SPC não se encontra dentro do intervalo válido. Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
ERRO (ERROR)	<p>Não foi possível determinar a presença ou ausência do MTB. Repita o teste. Consulte Secção J.2, Procedimento de repetição do teste.</p> <ul style="list-style-type: none"> MTB: SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda: FALHOU (FAIL). Todos ou um dos resultados da verificação da sonda falharam. <p>Nota: 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>Não foi possível determinar a presença ou ausência do MTB. Repita o teste. Consulte Secção J.2, Procedimento de repetição do teste. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.</p> <ul style="list-style-type: none"> MTB: SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda: NA (não aplicável)

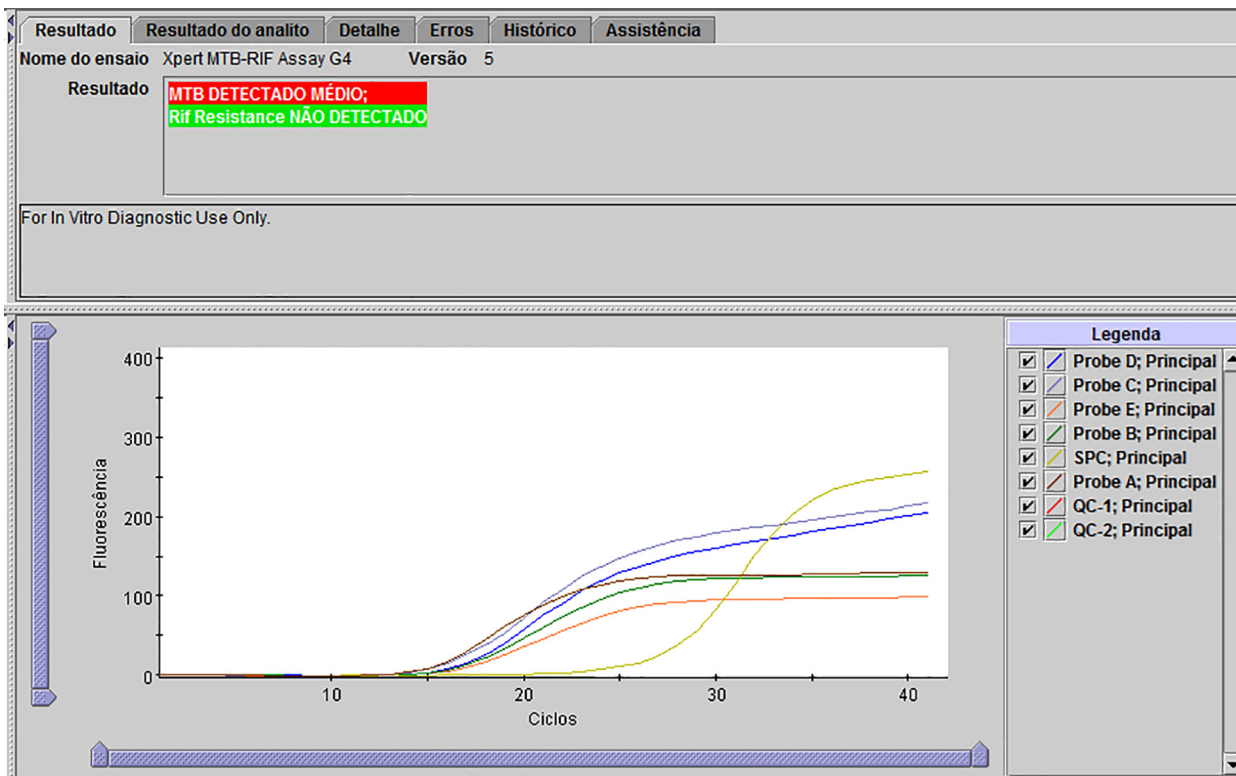


Figura 9. MTB DETETADO MÉDIO, Rif Resistance NÃO DETETADO (Vista de utilizador detalhado do GeneXpert Dx)

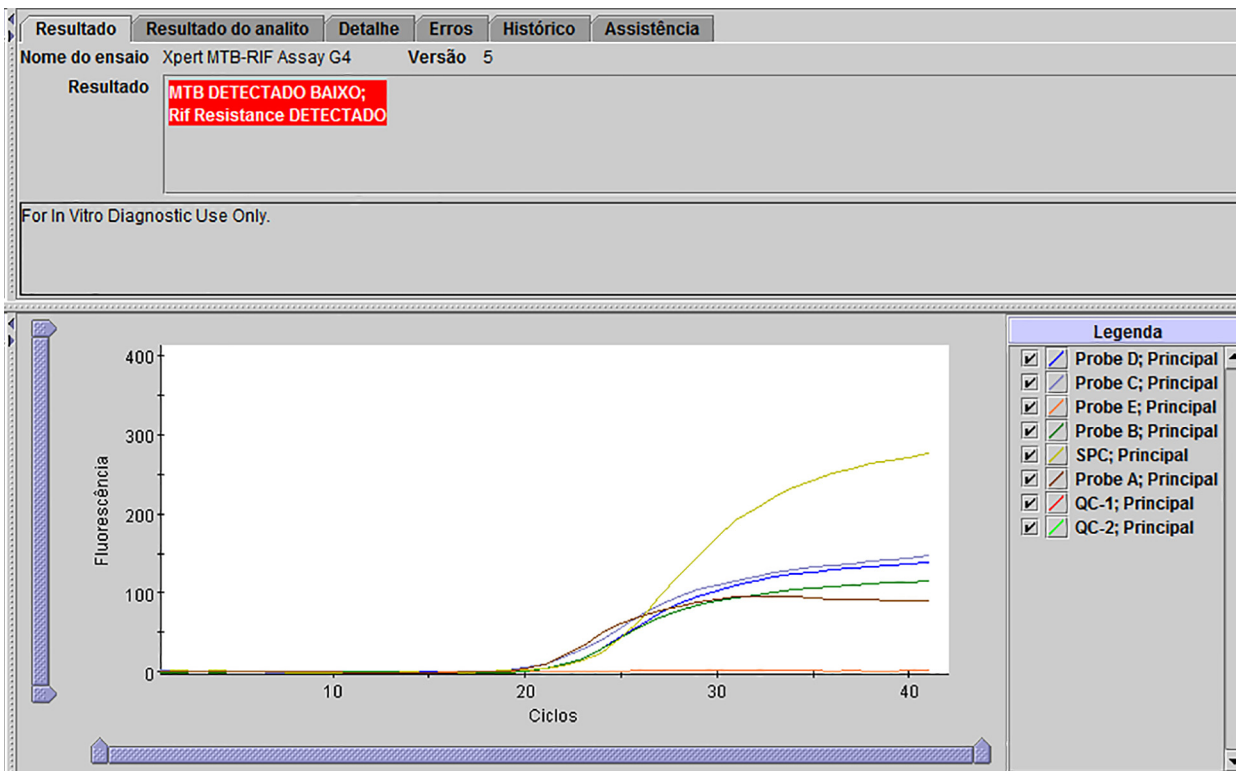


Figura 10. MTB DETETADO BAIXO; Rif Resistance DETETADO (Vista de utilizador detalhada do GeneXpert Dx)

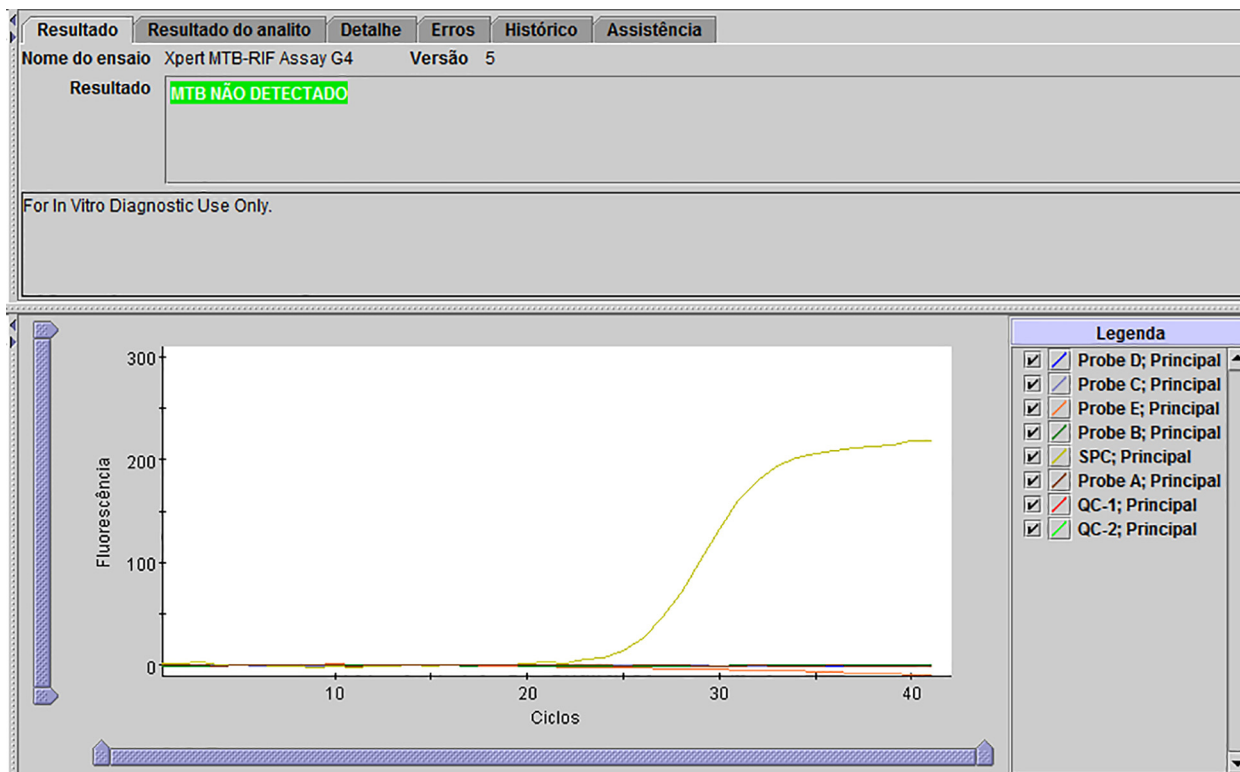


Figura 11. MTB NÃO DETETADO (Vista de utilizador detalhada do GeneXpert Dx)

J.1 Motivos para repetir o ensaio

Repetir o teste usando um novo cartucho se ocorrer um dos seguintes resultados do teste:

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o PCC 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, a terem sido excedidos os limites de pressão máxima ou a falha de um módulo GeneXpert.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.

J.2 Procedimento de repetição do teste

Se tiver expetoração recente remanescente ou sedimento reconstituído, use sempre um reagente de amostra novo para descontaminar e liquefazer a expetoração antes de efetuar o ensaio. Consulte a Secção H.1, Preparar os sedimentos de expetoração ou a Secção H.2, Preparar a amostra de expetoração expelida.

Se tiver restado amostra tratada com SR em quantidade suficiente e tiverem decorrido menos de 4 horas desde a adição inicial de SR à amostra, pode usar a amostra remanescente para preparar e processar um novo cartucho. Ao repetir o teste, use sempre um novo cartucho. Consulte Secção H.3, Preparação do cartucho.

Nota Se utilizar um instrumento Infinity, a repetição do teste deve ser iniciada nos módulos denominados como módulos STAT reservados.

K. Limitações

O desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF foi validado utilizando os procedimentos fornecidos neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste. Os resultados do ensaio Xpert MTB/RIF devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos à disposição do médico.

Como a detecção de MTB depende do número de organismos presentes na amostra, os resultados fidedignos dependem da correta colheita, manuseamento e conservação da amostra. Podem ocorrer resultados de teste errados devido a colheita de amostra incorreta, não efetuada de acordo com o procedimento recomendado para colheita, manuseamento e conservação da amostra, erro técnico, troca de amostras ou porque a concentração no material inicial era insuficiente. O cumprimento cuidadoso das instruções deste folheto é necessário para evitar resultados errados.

Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. É, contudo, presumível quanto à presença de MTB e de resistência à rifampicina.

Os resultados do teste também podem ser afetados por antibioterapia antecedente ou 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 ou da sonda podem afetar a detecção de estirpes novas ou desconhecidas de MTB-MR ou resistentes à RIF, originando resultados falsos negativos.

Resultados semiquantitativos de **DETETADO MTB BAIXO (MTB DETECTED LOW)** ou **DETECTADO MTB MUITO BAIXO (MTB DETECTED VERY LOW)** com **DETETADA resistência à RIF (RIF Resistance DETECTED)** podem necessitar de confirmação dos resultados da resistência à rifampicina por TSA ou outro método, em particular quando a suspeita clínica de MDR-TB é baixa.

L. Características do desempenho

Esta secção lista as características e as limitações do desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF.

L.1 Teste do desempenho - Clínico

As características do desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF para detecção de TB e resistência à rifampicina foram avaliadas em cinco instituições na Ásia, Europa, África e América do Sul.¹¹

O estudo foi efetuado em conformidade com o protocolo da Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND) *Xpert MTB Evaluation Study: Avaliação do FIND/Cepheid ensaio Xpert MTB para a detecção de TB pulmonar na expetoração de adultos sintomáticos*.

Entre os sujeitos contam-se pessoas com sintomas de TB pulmonar e em risco de multirresistência. Para os sujeitos elegíveis, foram recolhidas três amostras de expetoração para testar com o ensaio Xpert MTB/RIF e testes de referência.

O desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF foi comparado com:

- Microscopia de esfregaço ZN¹²
- Cultura em meio líquido (Becton Dickinson BACTEC™ 960 MGIT™) e sólido (Löwenstein-Jenson)¹³
- Teste de suscetibilidade a fármacos (TSF) na proporção L-J ou em MGIT abrangendo pelo menos quatro fármacos de primeira linha¹⁴
- Testes NAAT padrão (Gen-Probe Amplified Mycobacterium TB Direct Test e Roche AMPLICOR® MTB Test) quando executados

As amostras incluíam amostras de expetoração colhidas para testes de rotina em pacientes suspeitos de infeção com tuberculose e em risco de TB multirresistente.

L.2 Resultados totais

Foi testado um total de 1448 amostras de expetoração quanto à resistência a MTB e RIF utilizando o ensaio Xpert MTB/RIF, bem como microscopia de esfregaço e cultura bacteriana. As amostras em três das instalações participantes foram também avaliadas usando ou o AMPLICOR MTB Test (University of Cape Town, África do Sul e Índia) ou o Amplified Mycobacterium TB Direct Test (Azerbaijão). Dos 1448 participantes, 563 tinham esfregaço e cultura positivos para TB (S+C+), 170 tinham esfregaço negativo e cultura positiva para TB (S-C+); a TB foi excluída em 618. Os restantes 97 pacientes receberam tratamento para a TB com base em sintomas clínicos e melhoraram com o tratamento TB, mas não foram testados por microscopia de esfregaço ou cultura; estes pacientes não estão incluídos nas análises de dados apresentados nas tabelas.

L.3 Resultados da detecção de MTB

Globalmente, ao considerar o conjunto dos resultados de três amostras de expetoração por paciente, o ensaio Xpert MTB/RIF demonstrou uma sensibilidade entre amostras positivas de cultura de 97,3% (713/733). Em pacientes S+C+, a sensibilidade do ensaio Xpert MTB/RIF foi de 99,5% (560/563); em pacientes S-C+, a sensibilidade foi de 90,0% (153/170). A especificidade do ensaio Xpert MTB/RIF em pacientes não TB foi de 97,9% (605/618). Consulte Tabela 3.

Tabela 3. Desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF em amostras de expetoração^{a,b}

Local	Sensibilidade S+C+	Sensibilidade S-C+	Especificidade
Peru	100% (199/199) [98,1%-100%]	83,3% (10/12) [55,2%-95,3%]	100% (102/102) [96,4%-100%]
Azerbaijão	100% (76/76) [95,2%-100%]	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]
África do Sul-1	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]
África do Sul-2	100% (30/30) [88,6%-100%]	86,7% (13/15) [62,1%-96,3%]	97,3% (213/219) [94,2%-98,7%]
Índia	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]
Global	99,5% (560/563) [98,4%-99,8%]	90,0% (153/170) [84,6%-93,7%]	97,9% (605/618) [96,4%-98,8%]

a. Representa os resultados de 3 testes Xpert, 3 esfregaços e 4 culturas.

b. S = esfregaço; C = cultura

Considerando apenas uma única amostra de expetoração direta, a sensibilidade do ensaio Xpert MTB/RIF foi de 97,8% (545/557) em pacientes S+C+ e de 73,1% (122/167) em pacientes S-C+. A especificidade foi de 99,0% (605/611) em pacientes não TB.

L.4 Resistente à RIF

Globalmente, ao considerar um conjunto dos resultados de três amostras de expetoração por paciente, o ensaio Xpert MTB/RIF demonstrou sensibilidade à deteção da resistência à RIF entre pacientes fenotipicamente resistentes à RIF de 96,1% (195/203). A especificidade do ensaio Xpert MTB/RIF em pacientes fenotipicamente sensíveis à RIF foi de 98,6% (502/509). Consulte Tabela 4.

Tabela 4. Desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF em amostras de expetoração^a

Local	Sensibilidade em casos resistentes à RIF	Especificidade em casos sensíveis à RIF
Peru	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (190/193) [95,5%-99,5%]
Azerbaijão	95,5% (42/44) [84,9%-98,7%]	98,9% (90/91) [94,0%-99,8%]
África do Sul-1	93,8% (15/16) [71,7%-98,9%]	100% (126/126) [97,0%-100%]
África do Sul-2	100% (3/3) [43,8%-100%]	100% (38/38) [90,8%-100%]

Tabela 4. Desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF em amostras de expetoração^a (Continuação)

Local	Sensibilidade em casos resistentes à RIF	Especificidade em casos sensíveis à RIF
Índia	96,0% (119/124) [90,9%-98,3%]	95,1% (58/61) [86,5%-98,3%]
Global	96,1% (195/203) [92,4%-98,0%]	98,6% (502/509) [97,2%-99,3%]

a. Representa os resultados de 3 testes Xpert, 3 esfregaços e 4 culturas.

Considerando apenas uma só amostra de expetoração direta, a sensibilidade do ensaio Xpert MTB/RIF para deteção da resistência à RIF foi de 97,2% (141/145) em pacientes resistentes à RIF. A especificidade em casos sensíveis à RIF foi de 98,3% (412/419). Consulte Tabela 5.

Tabela 5. Desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF em amostras de expetoração^a

Local	Sensibilidade em casos resistentes à RIF	Especificidade em casos sensíveis à RIF
Peru	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (180/183) [95,3%-99,4%]
Azerbaijão	97,4% (38/39) [86,8%-99,5%]	98,7% (74/75) [92,8%-99,8%]
África do Sul-1	90,9% (10/11) [62,3%-98,4%]	98,1% (102/104) [93,3%-99,5%]
África do Sul-2	100% (1/1) [20,7%-100%]	100% (23/23) [85,7%-100%]
Índia	97,4% (76/78) [91,1%-99,3%]	97,1% (33/34) [85,1%-99,5%]
Global	97,2% (141/145) [93,1%-98,9%]	98,3% (412/419) [96,6%-99,2%]

a. Representa resultados de 1 teste Xpert direto, 3 esfregaços e 4 culturas.

Os resultados do ensaio Xpert MTB/RIF sobre amostras das instalações onde foi também realizado um teste NAAT são apresentados em Tabela 6. O resultado do teste NAAT é apresentado para comparação.

Tabela 6. Comparação do desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF e de NAAT alternativo sobre amostras de expetoração

Estadística	Teste ^a	Azerbaijão	África do Sul-1	Índia	Global
Sensibilidade S+C+	Xpert(3)	100% (76/76) [95,2%-100%]	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	99,1% (331/334) [97,4%-99,8%]
	Xpert(1)	97,3% (73/75) [90,8%-99,3%]	96,8% (92/95) [91,1%-98,9%]	98,8% (159/161) [95,6%-99,7%]	97,9% (324/331) [95,7%-99,2%]
	NAAT	100% (76/76) [95,2%-100%]	93,7% (89/95) [86,9%-97,1%]	94,2% (147/156) [89,4%-96,9%]	95,4% (312/327) [92,3%-97,4%]
Sensibilidade S-C+	Xpert(3)	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	90,9% (130/143) [85,0%-95,1%]
	Xpert(1)	68,8% (44/64) [56,6%-78,8%]	86,3% (44/51) [74,3%-93,2%]	69,2% (18/26) [50,0%-83,5%]	75,2% (106/141) [67,2%-82,1%]
	NAAT	66,2% (43/65) [54,0%-76,5%]	45,7% (16/35) [30,5%-61,8%]	72,0% (18/25) [52,4%-85,7%]	61,6% (77/125) [52,5%-70,2%]
Especificidade	Xpert(3)	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]	97,6% (290/297) [95,2%-99,1%]
	Xpert(1)	97,2% (69/71) [90,3%-99,2%]	99,5% (185/186) [97,0%-99,9%]	100% (35/35) [90,1%-100%]	99,0% (289/292) [97,0%-99,8%]
	NAAT	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	100% (187/187) [98,0%-100%]	100% (36/36) [90,4%-100%]	99,0% (292/295) [97,1%-99,8%]

a. Xpert(3) = resultados de 3 testes Xpert, 3 esfregaços, e 4 culturas; Xpert(1) = resultados de 1 teste Xpert direto, 3 esfregaços, e 4 culturas; NAAT = ProbeTec (Azerbaijão) e AMPLICOR (África do Sul e Índia); valor limiar de NAAT tratado como negativo.

Dos ensaios Xpert MTB/RIF efetuados no âmbito deste estudo, 96,5% (4327/4484) tiveram êxito à primeira tentativa. Os restantes 157 produziram resultados indeterminados na primeira tentativa. Cento e oito das 157 amostras produziram resultados válidos com a repetição do teste. A taxa global de sucesso do ensaio foi de 98,9% (4435/4484).

L.5 Substâncias que interferem

Foi efetuado um estudo para avaliar os potenciais efeitos inibitórios de substâncias que possam estar presentes na expetoração processada com o ensaio Xpert MTB/RIF. Estas incluem, entre outras: sangue, pus, células de mamíferos e hemoglobina. Estas substâncias foram testadas a uma concentração final da amostra de 5% (sangue, pus, células de mamífero) ou 0,2% (hemoglobina) para determinar um efeito, caso exista, no desempenho do Xpert MTB/RIF. Cada substância foi adicionada a uma amostra contendo aproximadamente 5 vezes o limite de deteção (LoD) das células alvo BCG e foi testada em duplicado.

Não foram observados efeitos inibitórios para qualquer das substâncias potencialmente interferentes, referidas anteriormente.

L.6 Sensibilidade analítica

Foram realizados estudos adicionais para determinar o intervalo de confiança de 95% para o limite de detecção analítico (LoD) deste ensaio. O limite de detecção é definido como o menor número de unidades formadoras de colónias (UFC) por amostra que pode ser distinguido com reprodutibilidade das amostras negativas com 95% de confiança. O LoD analítico foi determinado testando 20 réplicas de diferentes concentrações de células de *M. tuberculosis* usadas para enriquecer amostras clínicas de expetoração negativas. Nas condições do estudo, os resultados indicam que a estimativa do ponto LoD para o *M. tuberculosis* é de 131 UFC/ml com um intervalo de confiança de 95% compreendido entre 106,2 UFC e 176,4 UFC. A estimativa e os intervalos de confiança foram determinados usando uma regressão logística com dados (número de positivos por número de testes para cada nível) obtidos com diferentes concentrações.

Os intervalos de confiança foram determinados utilizando estimativas de máxima probabilidade sobre os parâmetros do modelo logístico, utilizando a grande matriz de variância-covariância da amostra.

L.7 Especificidade analítica (exclusividade)

Foram testadas 18 micobactérias não tuberculosas, estirpes MNT (anteriormente MOTT), com o ensaio Xpert MTB/RIF. Duas ou mais réplicas de cada isolado foram usadas para enriquecer amostras de expetoração negativas e testadas com uma concentração de 10⁶ UFC/ml. Consulte Tabela 7.

Tabela 7. Estirpes MNT testadas quanto à especificidade

Estirpes MNT testadas (10 ⁶ UFC/ml)			
1	<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500	10	<i>M. genevenses</i> , n.º 51233
2	<i>M. avium</i> , SmD Mc2, 2501	11	<i>M. xenopi</i> , n.º 2278
3	<i>M. intracellulare</i> , n.º 35790	12	<i>M. szulgai</i> , Cap E9-1997
4	<i>M. intracellulare</i> , n.º 35771	13	<i>M. celatum</i> , n.º 51131
5	<i>M. kansasii</i> , n.º 12478	14	<i>M. marinum</i> , Cap E10
6	<i>M. scrofulaceum</i> , Cap E5-1985	15	<i>M. simiae</i> , n.º 25275
7	<i>M. malmoense</i> , n.º 29571	16	<i>M. asiaticum</i> , E1-1985
8	<i>M. fortuitum</i> , n.º 35754	17	<i>M. thermoresistable</i> , e22-1985
9	<i>M. chelonae</i> , n.º 35749	18	<i>M. flavescens</i> , PoH 193D

Nas condições do estudo, todos os isolados de MNT foram considerados MTB negativo.

Adicionalmente, de modo a determinar se concentrações elevadas de MNT interfeririam com a detecção de níveis baixos de TB, as estirpes indicadas na Tabela 7 foram misturadas com a estirpe de TB H37Rv em expetoração a uma concentração final de 10⁶ UFC/ml de MNT e 200 UFC/ml de H37Rv.

As estirpes de MNT testadas relativamente à capacidade de interferir com a detecção da TB incluem:

- *M. avium*, SmT Mc2, 2500
- *M. avium*, SmD Mc2, 2501
- *M. intracellulare*, n.º 35790
- *M. intracellulare*, n.º 35771
- *M. kansasii*, n.º 12478
- *M. malmoense*, n.º 29571

Cinco das seis estirpes não interferiram com a detecção de 200 UFC/ml de *M. tuberculosis*; assim, os sinais foram idênticos a quando a H37Rv foi testada isoladamente. A sexta estirpe, *M. malmoense*, produziu uma interferência fraca a 10⁶ UFC/ml, mas não produziu qualquer interferência a 10⁵ UFC/ml ou menos. Portanto, não existe interferência na detecção de *M. tuberculosis*, mesmo com 10⁵ UFC/ml de MNT.

Os microrganismos não micobacterianos (n = 59) que representam um vasto conjunto de patogénicos, contaminantes comuns e microflora normalmente presente na expetoração ou na boca, foram testados a uma concentração de 10⁶ de cópias de ADN por volume de reação final. Todos os organismos foram corretamente identificados como sendo MTB negativos pelo ensaio Xpert MTB/RIF. Incluíram-se no estudo controlos positivos e negativos. A especificidade era de 100%.

L.8 Espécies/estirpes testadas quanto à especificidade

A Tabela 8 mostra espécies/estirpes testadas quanto à especificidade.

Tabela 8. Espécies/estirpes testadas quanto à especificidade

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus equi</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i> (Estirpe do tipo 2)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157H7 (estirpe do tipo 1)	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

L.9 Inclusividade analítica

Foram testadas amostras de ADN de um total de 79 estirpes de MTB no GX usando um protocolo Xpert MTB/RIF modificado para testar ADN. Os componentes finais da reação e as condições dos ciclos de PCR não foram alterados em relação ao protocolo concebido para testar amostras de pacientes. Setenta das estirpes pertenciam à coleção da OMS/TDR e nove à coleção do laboratório da Universidade de Medicina e Medicina Dentária de Nova Jérnia (UMDNJ). No seu conjunto, estas estirpes representam isolados de 31 países e continham 37 isolados resistentes à RIF compostos por 13 mutações únicas na região “core” do *rpoB*. Estas mutações incluem todas as mutações do gene *rpoB* encontradas na base de dados do TDR (Tropical Diseases Research). As reações negativas utilizaram água como amostra.

A mistura de reação final continha 90 cópias genómicas de isolados num volume total de 100 µl.

A Tabela 9 mostra que o Xpert MTB/RIF detetou corretamente todas as estirpes e identificou corretamente os isolados resistentes à rifampicina.

Tabela 9. Detecção de estirpes de MTB e isolados resistentes à rifampicina

		Resultados do GeneXpert			
		MTB positivo		MTB negativo	
		RIF detetada	RIF não detetada		
Referência	MTB+	Resistente à RIF	37	0	0
		Sensível à RIF	0	42	0
	MTB –		0	0	52

L.10 Inativação analítica de micobactérias em amostras de expetoração

A capacidade de desinfecção do reagente de amostra do Xpert MTB/RIF foi determinada usando um método de cultura tuberculicida quantitativo padronizado.¹⁵ As amostras de expetoração foram enriquecidas com uma concentração elevada de organismos *M. bovis* viáveis, misturadas com o reagente de amostra numa proporção de 2:1 e incubadas durante 15 minutos. Após a incubação a mistura reagente de amostra/expetoração foi neutralizada por diluição e filtração sendo, de seguida, efetuada a cultura. A viabilidade dos organismos *M. bovis* provenientes de expetoração tratada foi reduzida em, pelo menos, 6 log em comparação com o controlo não tratado.

Cada laboratório deve determinar a eficácia das propriedades desinfetantes do reagente de amostra, usando os seus métodos padronizados e deve cumprir os regulamentos sobre biossegurança recomendados.

M. Referências

1. WHO report 2008. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008
2. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394
3. Morris SL, Bai G, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. *Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis 1995; 171:954-60.
4. Ashok Rattan, Awdhesh Kalia, and Nishat Ahmad. *Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives*, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>
5. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: *Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians*, Second Edition.
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. 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, subpart Z).
10. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
11. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, et al. *Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance*. N Engl J Med 2010;363:1005-15.
12. Laboratory Services in Tuberculosis Control: Part II, Microscopy WHO/TB/98.258; p 1-61.
13. Laboratory Services in Tuberculosis control: Part III Culture. WHO/TB/98.258. p 1- 74.
14. NCCLS, Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia, and other Aerobic Actinomycetes: Approved Standard. NCCLS document M24-A (ISBN 1- 56238-500-3). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898, USA. 2003.
15. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:10. 3551-3557.

N. 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

O. 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>.

P. Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Marca CE – Conformidade Europeia
	Não utilize mais de uma vez
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Líquidos inflamáveis
	Corrosiva para a pele
	Toxicidade relacionada com a reprodução e os órgãos
	Atenção
	Mandatário na Suíça
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Suécia
Tel.: +46 8 6843 7000
Fax: +46 8 6843 7010



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



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



