

Xpert[®] SA Nasal Complete

REF GXSACOMP-120

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2013-2023 Cepheid.

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid®, o logótipo da Cepheid, GeneXpert®, e Xpert® são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países. Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

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

© 2013-2023 Cepheid.

Xpert[®] SA Nasal Complete

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1. Nome proprietário

Xpert[®] SA Nasal Complete

2. Nome comum ou usual

Ensaio Xpert[®] SA Nasal Complete

3. Utilização prevista

O ensaio Cepheid[®] Xpert SA Nasal Complete realizado no sistema GeneXpert[®] Dx é um teste qualitativo para diagnóstico *in vitro* concebido para a rápida deteção de *Staphylococcus aureus* (SA) e *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) a partir de esfregaços 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/SA. O ensaio Xpert SA Nasal Complete destina-se a ajudar na prevenção e controlo de infeções por MRSA/SA em estabelecimentos de cuidados de saúde. O ensaio Xpert SA Nasal Complete não se destina ao diagnóstico, à orientação ou à monitorização do tratamento de infeções por MRSA/SA, nem ao fornecimento de resultados da suscetibilidade à metilina. Um resultado negativo não exclui a colonização nasal por MRSA/SA. São necessárias culturas concomitantes para colheita de organismos para tipagem epidemiológica ou testes de suscetibilidade suplementares.

4. Resumo e explicação

O *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é um agente patogénico humano bem documentado que provoca infeções comunitárias ou associadas a cuidados de saúde. As infeções variam na sua gravidade, desde feridas cutâneas não-complicadas até doenças potencialmente fatais, incluindo endocardite, septicemia e osteomielite. O *S. aureus* continua a ser uma importante causa de morbidade e mortalidade numa variedade de instituições de cuidados de saúde, incluindo hospitais e instalações de cuidados de longa duração. Os portadores nasais de *S. aureus* apresentam maior risco de infeções por este organismo associadas a estabelecimentos de saúde; globalmente, mais de 80% das infeções por *S. aureus* associadas a estabelecimentos de saúde têm origem numa fonte endógena.¹ Mais especificamente, 20 a 30% das infeções em locais cirúrgicos são causadas por *S. aureus* e mais de metade destas provém de flora endógena.² As infeções por *S. aureus* são geralmente agudas e desencadeiam uma grande resposta inflamatória. Se não for tratada, a infeção poderá alastrar-se ao tecido circundante ou à corrente sanguínea, o que poderá levar a infeções em múltiplos órgãos. Algumas das infeções mais graves produzidas por *S. aureus* são: bacteriemia, pneumonia, osteomielite, endocardite aguda, síndrome de choque tóxico, miocardite, pericardite, meningite, corioamnionite, síndrome de pele escaldada e abscessos do músculo, do trato urogenital, do sistema nervoso central e de vários órgãos intra-abdominais.³

No início da década de 1950, a aquisição e a propagação de plasmídeos codificadores de beta-lactamase impediu a eficácia da penicilina no tratamento de infeções por *S. aureus* (SA). Em 1959, foi introduzida na prática clínica a metilina, uma penicilina semi-sintética. No entanto, por volta de 1960, foram identificadas estirpes de *S. aureus* resistentes à metilina (MRSA). Determinou-se que isto resultou da aquisição do gene de resistência à metilina *mecA* pelo *S. aureus*. Atualmente, nos EUA, o MRSA é responsável por aproximadamente 25% das infeções associadas a cuidados de saúde e os relatos de MRSA adquirido em comunidades estão a aumentar, resultando em morbidade e mortalidade significativas. Foi relatada uma mortalidade atribuível de 33% e de 16% para bacteriemia por MRSA e *S. aureus* sensível à metilina, respetivamente. Também há preocupações crescentes com o custo das infeções por MRSA. 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.⁴⁻⁸ Atualmente, o método padrão para detetar MRSA e SA é a cultura, que é um método trabalhoso e pode exigir vários dias para se chegar a um resultado definitivo. Resultados de um recente ensaio clínico multicêntrico, bem controlado, mostraram que a rápida identificação de portadores nasais de *S. aureus*, utilizando PCR em tempo real, seguida pela imediata implementação de procedimentos para descolonizar locais nasais e extra-nasais, poderá reduzir em quase 60% o número de infeções por *S. aureus* em locais cirúrgicos adquiridas em hospitais.¹

5. Princípio do procedimento

O sistema GeneXpert Dx automatiza e integra a purificação de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção 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 e ver os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes da PCR e onde decorre esse processo. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

O ensaio Xpert SA Nasal Complete inclui reagentes para a detecção de MRSA e SA. Também estão incluídos um controlo de processamento da amostra (SPC) e um controlo de verificação da sonda (PCC). O SPC está presente para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e para monitorizar a presença de um ou mais inibidores na reação PCR. O PCC verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

O ensaio Cepheid Xpert SA Nasal Complete é um teste de diagnóstico automático rápido para a detecção qualitativa de sequências exclusivas do gene da proteína estafilocócica A (*spa*), do gene da resistência à meticilina (*mecA*) e do cromossoma da cassette estafilocócica *mec* (*SCCmec*) inserido no local cromossómico *attB* do cromossoma do SA, a partir de amostras das narinas de doentes em risco de colonização nasal.

6. Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



O kit do ensaio Xpert SA Nasal Complete contém reagentes suficientes para o processamento de 120 amostras ou amostras de controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Cartuchos do ensaio Xpert SA Nasal Complete com tubos de reação integrados	120
• Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas)	1 por cartucho
• Reagente 1	3,0 ml por cartucho
• Reagente 2 (hidróxido de sódio)	3,0 ml por cartucho
Saco de reagente de eluição do ensaio Xpert SA Nasal Complete	1
• Reagente de eluição (tiocianato de guanidina)	125 x 2,0 ml por frasco
CD	1 por kit
• Ficheiro de definição do ensaio (ADF — assay definition file)	
• Instruções para importar ADF para o software GeneXpert	
• Instruções de utilização (folheto informativo)	

Nota

As Fichas de Dados de Segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador **APOIO (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 Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema GeneXpert Dx (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com software exclusivo GeneXpert versão 2.1 ou posterior, leitor de códigos de barras de mão e manual do utilizador.
- Impressora (Caso necessite de uma impressora, contacte a Assistência Técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.)
- Agitador de vórtice
- Zaragatoa para transferência da amostra, como aquela encontrada no Cepheid Sample Collection Device 900-0370 (zaragatoa dupla em meio de Stuart líquido), nos sistemas duplos de colheita e transporte da Copan (139C LQ STUART ou 138C LQ AMIES)
- Pipetas de transferência descartáveis (VWR 14670-331, Samco 2S-PL-232-1S), ou equivalente
- Gaze (VWR 82030-638), ou equivalente

6.3 Materiais disponíveis mas não fornecidos

KWIK-STIK™ da Microbiologics, n.º de catálogo 0158MRSA e n.º de catálogo 0360MSSA, como controlos positivos externos, e n.º 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* sensível à meticilina) como controlo negativo externo.

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)⁹ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.¹⁰
- Numa cultura mista que contenha MRSA/SA e outros organismos (por ex., bacilos Gram-negativos, leveduras), os resultados podem ser falsos negativos ou variáveis, dependendo da concentração de MRSA/SA existente, particularmente se esta estiver próxima do limite de deteção (LoD) do ensaio.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com químicos e manusear amostras biológicas.
- O ensaio Xpert SA Nasal Complete consegue detetar ADN de MRSA e/ou SA de organismos não-viáveis. A probabilidade desta ocorrência aumenta no caso de doentes medicados com antibióticos.
- O ensaio Xpert SA Nasal Complete não fornece resultados de testes de suscetibilidade antimicrobiana. É necessário tempo adicional para cultura e para realizar testes de suscetibilidade.
- Não substitua os reagentes do ensaio Xpert SA Nasal Complete por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do ensaio Xpert SA Nasal Complete, exceto ao adicionar a amostra e o reagente.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou sido agitado depois de ter adicionado a amostra e o reagente.
- Não abra a embalagem de um cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.



- Cada cartucho do ensaio Xpert SA Nasal Complete de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- 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).

8. Perigos químicos^{11,12}



- Pictograma de perigo GHS da ONU:
- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Nocivo por ingestão
 - Provoca irritação cutânea
 - Provoca irritação ocular grave
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
 - Prevenção
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
 - Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.
 - Evitar a libertação para o ambiente.
 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

- Resposta
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes.
 - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
 - Tratamento específico, ver informação de primeiros-socorros suplementar.
 - Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
 - Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.
 - EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
 - Enxaguar a boca.

9. Conservação e manuseamento



- Conserve os cartuchos e os reagentes Xpert SA Nasal Complete 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.
- Não utilize nenhum reagente que esteja turvo ou descolorado.
- Utilize os cartuchos no prazo de 2 semanas após a abertura da embalagem metalizada.

10. Colheita, transporte e conservação de amostras



1. Siga as orientações da sua instituição na colheita de amostras de esfregaço nasal para testes de MRSA/SA. Consulte Secção 6.2, Materiais necessários mas não fornecidos para informação sobre zaragatoas. As zaragatoas podem ser utilizadas secas ou pré-humedecidas com soro fisiológico estéril aquando da utilização do Cepheid Sample Collection Device ou do Copan Liquid Stuart Collection Device. As zaragatoas deverão ser pré-humedecidas com a esponja embebida em meio aquando da utilização do Copan Liquid Amies Collection Device.



2. Coloque a zaragatoa com a amostra novamente dentro do tubo de transporte de plástico (recomenda-se meio de Stuart líquido, Cepheid ou Copan Collection Device) e envie para a área de testes GeneXpert. Conserve a restante zaragatoa por testar num sistema de transporte apropriado entre 2 °C e 8 °C para cultura microbiológica e faça a cultura dentro de 4 dias.
3. Conserve a amostra à temperatura ambiente (15 °C a 28 °C) se será processada dentro de 24 horas; caso contrário, conserve entre 2 °C e 8 °C. A amostra de esfregaço ficará estável até 5 dias quando conservada entre 2 °C e 8 °C.

11. Procedimento

Os operadores deverão receber formação sobre o funcionamento básico do instrumento GeneXpert e sobre o(s) teste(s) Xpert de acordo com as orientações da sua instituição.

11.1 Preparação do cartucho

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

Para adicionar a amostra ao cartucho:

1. Retire o cartucho e o reagente da embalagem.
2. Retire a zaragatoa do recipiente de transporte.

Nota Utilize gaze no manuseamento da zaragatoa para minimizar o risco de contaminação.

3. Insira a zaragatoa no tubo que contém o reagente de eluição e quebre a zaragatoa.
4. Feche a tampa do frasco do reagente de eluição e agite no agitador de vórtice na velocidade máxima durante 10 segundos.
5. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência, transfira todos os conteúdos do reagente de eluição para a câmara de amostra do cartucho do ensaio Xpert SA Nasal Complete. Consulte a Figura 1.
6. Feche a tampa do cartucho.

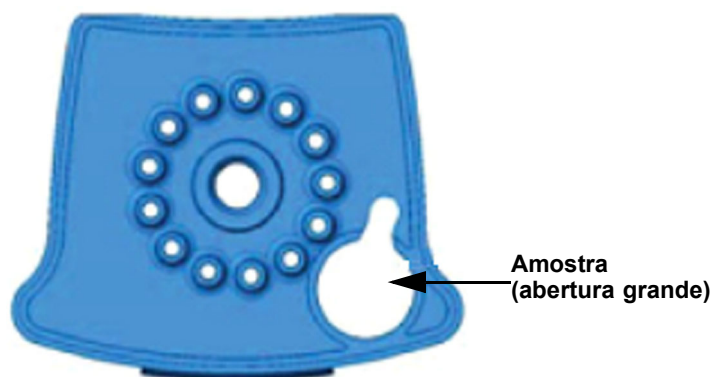


Figura 1. Cartucho do ensaio Xpert SA Nasal Complete (vista de cima)

11.2 Iniciar o teste

Importante

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio Xpert SA Nasal Complete foi importado para o software. 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 instrumento GeneXpert Dx e depois ligue o computador. O software GeneXpert arranca automaticamente.
2. Inicie sessão no software do sistema GeneXpert Dx utilizando o seu nome de utilizador e senha.
3. Na janela sistema GeneXpert Dx, faça clique em **Criar teste (Create Test)**. Aparece a janela Criar teste (Create Test).
4. Digitalize ou introduza a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do paciente (Patient ID) correta. A ID do paciente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é visualizada na janela **Ver resultados (View Results)**.
5. Na caixa ID da amostra (Sample ID), leia ou introduza a ID da amostra. Assegure-se de que introduz a ID da amostra correta (a ID da amostra está associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios). Aparece a caixa de diálogo **Ler cartucho (Scan Cartridge)**.
6. Realize a leitura do código de barras do cartucho Xpert SA Nasal Complete. 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).
7. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Introduza a sua palavra-passe se lhe for solicitada.
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.

11.3 Visualização e impressão de resultados

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

12. Controlo de qualidade

CONTROL

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (SPC) (no ecrã de visualização de resultados para o utilizador administrador) e um controlo de verificação da sonda (PCC).

Controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC) — 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 da amostra do ensaio Xpert SA Nasal Complete. O SPC verifica se ocorreu lise do *S. aureus*, se os organismos estão presentes e se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo assegura que as condições da reação PCR (temperatura e tempo) são apropriadas para a reação de amplificação e que os reagentes da PCR estão funcionais, e 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 (Probe Check Control, PCC) — antes do início da reação PCR, o sistema GeneXpert Dx mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

Controlos externos — podem ser utilizados controlos externos de acordo com organizações de acreditação locais, nacionais e europeias, consoante aplicável.

Na utilização de controlos KWIK-STIK (consulte 6.3), 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 (enrosque a tampa). A zaragatoa KWIK-STIK está agora pronta para o teste do ensaio Xpert SA Nasal Complete.
6. Se o desempenho do CQ externo não for o esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a Cepheid para obter assistência.

13. Interpretação dos resultados

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

Resultado	Interpretação
MRSA POSITIVO/SA POSITIVO (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE) (Figura 2)	ADN-alvo de MRSA detetado; ADN-alvo de SA detetado. <ul style="list-style-type: none"> • Todos os alvos de MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>) têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um ponto final superior à definição do limiar. • SPC – não aplicável; o SPC é ignorado, dado que a amplificação do MRSA poderá competir com este controlo. • Verificação da sonda — APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de MRSA ou SA.
MRSA NEGATIVO/SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) (Figura 3)	ADN-alvo de MRSA não detetado; ADN-alvo de SA detetado. <ul style="list-style-type: none"> • O alvo de SA (<i>spa</i>) tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um ponto final superior à definição do limiar. O ADN-alvo para o <i>SCCmec</i> não é detetado e o ADN-alvo para o <i>mecA</i> é ou não detetado. • O alvo de SA (<i>spa</i>) tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um ponto final superior à definição do limiar. O ADN-alvo para o <i>mecA</i> não é detetado e o ADN-alvo para o <i>SCCmec</i> é detetado (variante de cassete vazia). • SPC – não aplicável; o SPC é ignorado, dado que a amplificação do SA poderá competir com este controlo. • Verificação da sonda — APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. Um resultado de teste MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE) não exclui colonização nasal por MRSA.

Resultado	Interpretação
MRSA NEGATIVO/SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) (Figura 4)	<p>ADN-alvo de SA não detetado.</p> <ul style="list-style-type: none"> ADN-alvo de SA (<i>spa</i>) não é detetado. ADN-alvo para o <i>mecA</i> pode ou não ser detetado; ADN-alvo para o <i>SCCmec</i> pode ou não ser detetado. SPC – APROVADO; o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um ponto final superior à definição do limiar. Verificação da sonda — APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. <p>Um resultado de teste MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE) não exclui colonização nasal por MRSA ou SA.</p> <p>Um falso negativo para o MRSA (um resultado MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)) em vez de MRSA POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)) poderá ser obtido se tanto MRSA como SA estiverem presentes na amostra numa razão MRSA:SA de $1:1 \times 10^3$ ou superior.</p>
INVÁLIDO (INVALID) (Figura 5)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo de MRSA e SA. Repita o teste de acordo com as instruções da secção abaixo.</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC – FALHA; o resultado do alvo do SPC é negativo, o Ct (limiar de ciclo) do SPC não está dentro do intervalo válido e o ponto final é inferior à definição do limiar. Verificação da sonda — APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
ERRO (ERROR)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo de MRSA e SA. Repita o teste de acordo com as instruções da secção abaixo.</p> <ul style="list-style-type: none"> Alvos de MRSA e SA – SEM RESULTADO SPC – SEM RESULTADO. Verificação da sonda – FALHOU*; um ou mais dos resultados de verificação da sonda falharam. <p>*Se a verificação da sonda passou, provavelmente o erro foi causado porque a pressão máxima excedeu o intervalo aceitável.</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo de MRSA e SA. Repita o teste de acordo com as instruções da secção abaixo.</p> <ul style="list-style-type: none"> Alvos de MRSA e SA – SEM RESULTADO SPC – SEM RESULTADO Verificação da sonda – não aplicável

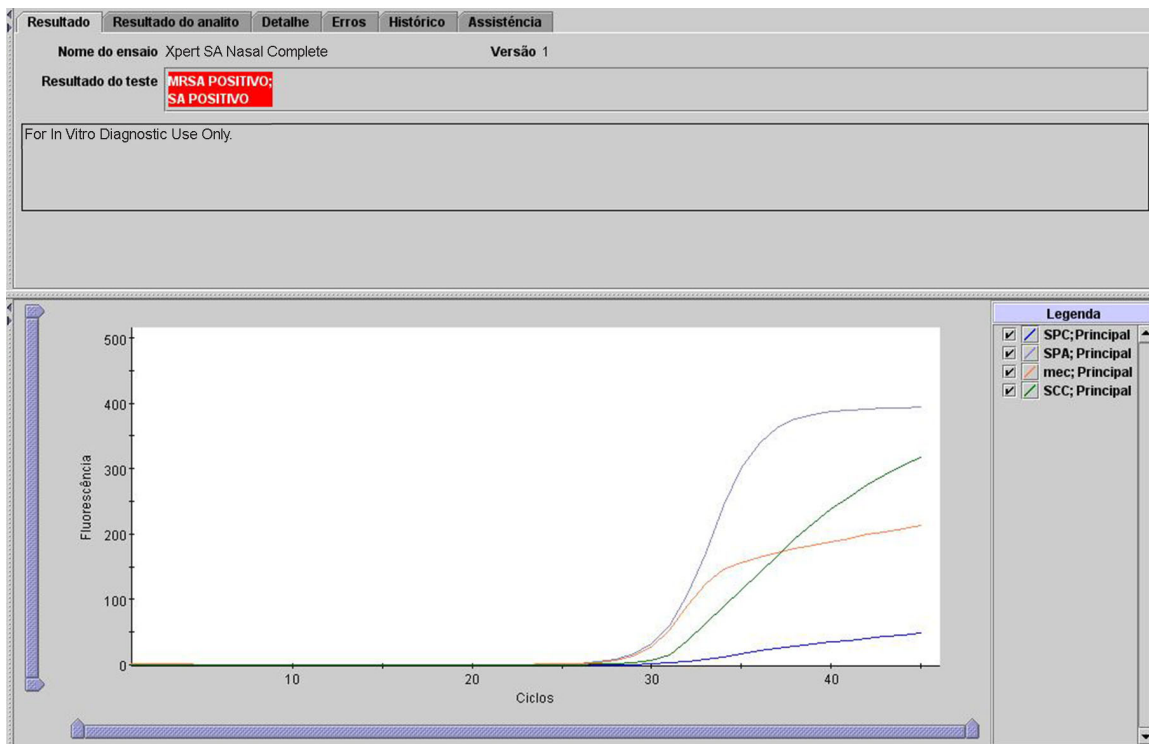


Figura 2. Exemplo de um resultado MRSA POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)

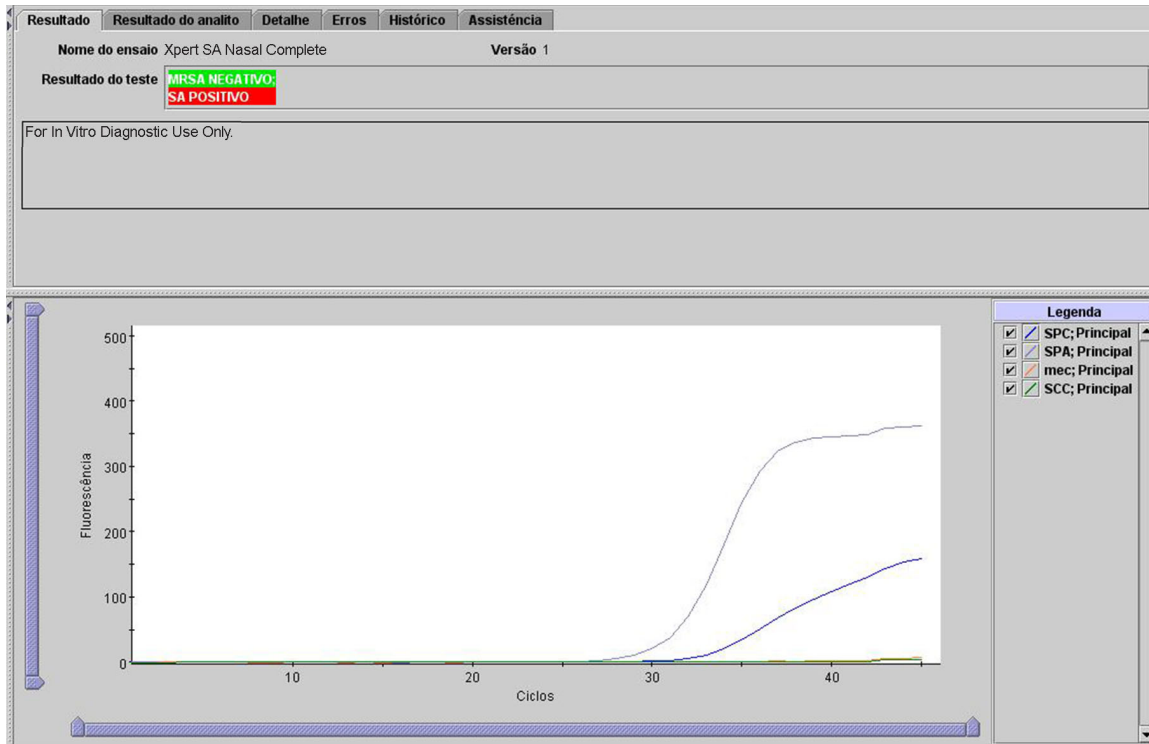


Figura 3. Exemplo de um resultado MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)

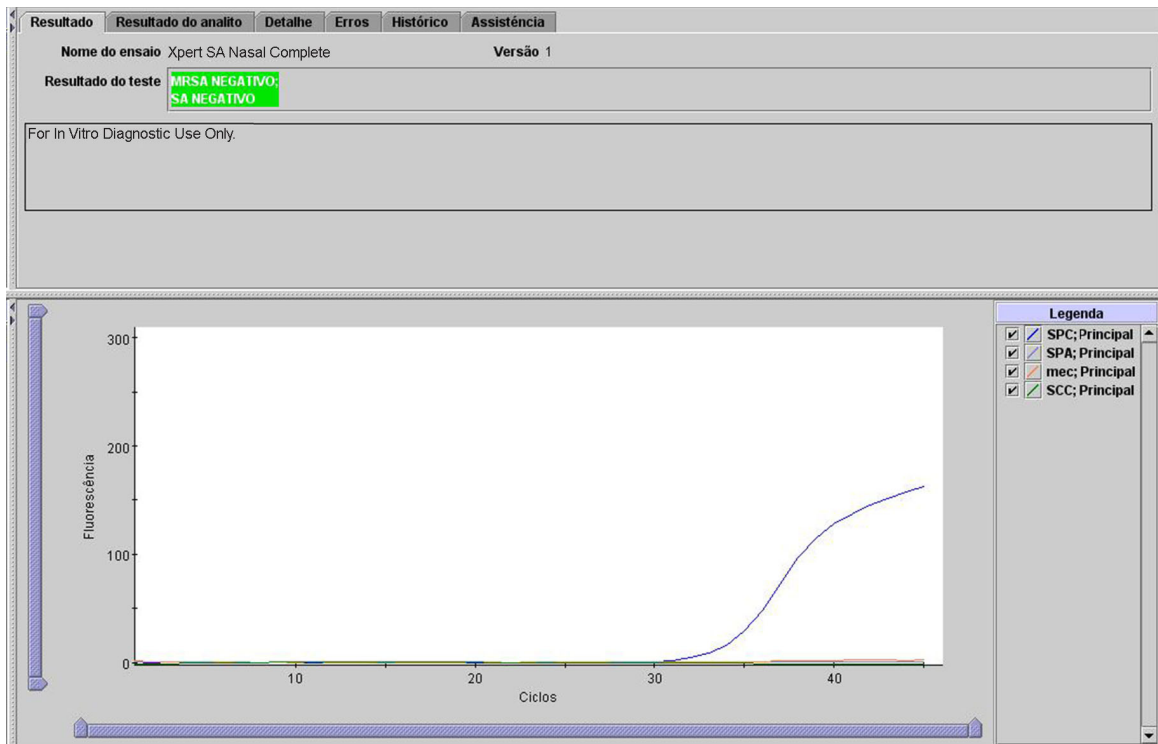


Figura 4. Exemplo de um resultado MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)

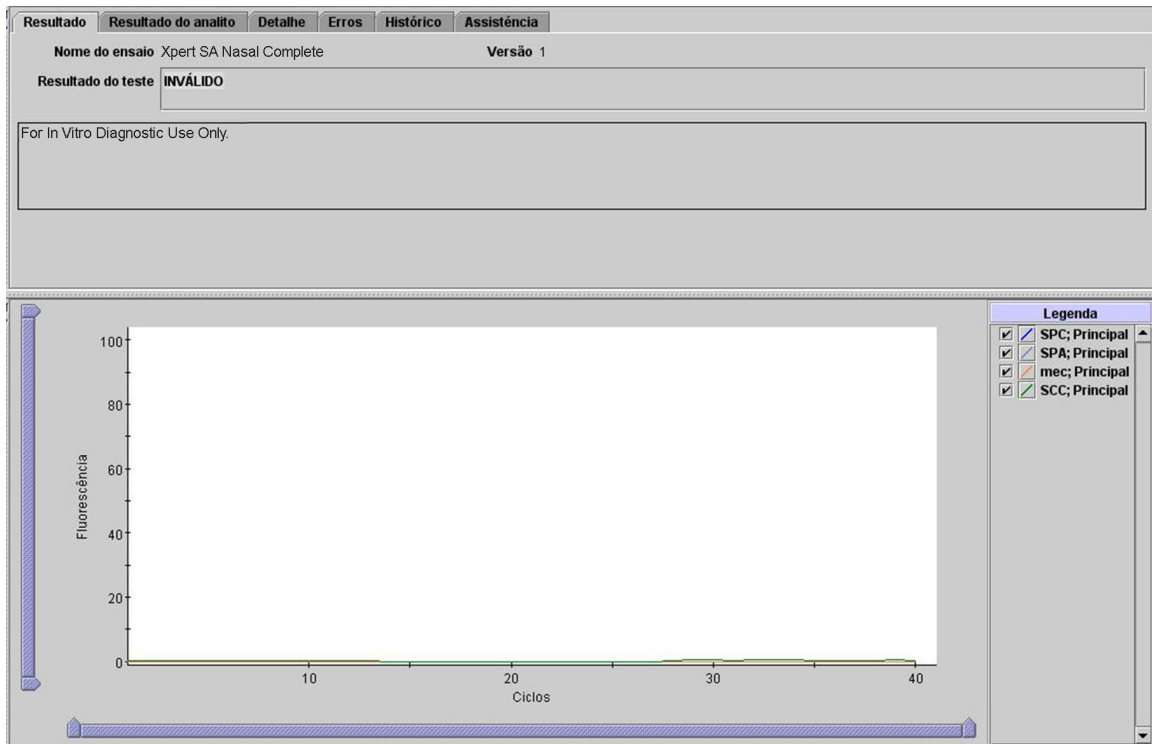


Figura 5. Exemplo de um resultado INVÁLIDO (INVALID)

14. Motivos para repetir o ensaio

Se ocorrer algum dos resultados de teste referidos abaixo, repita o teste de acordo com o procedimento acima utilizando uma nova amostra, um novo cartucho (não reutilize o cartucho) e um novo reagente.

Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o controlo SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.

Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o ensaio foi abortado. Algumas das causas possíveis são: o tubo de reação não foi adequadamente enchido, foi detetado um problema de integridade da sonda de reagente ou os limites de pressão máxima foram excedidos.

SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.

15. Limitações

- O desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete 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 SA Nasal Complete deverão ser interpretados juntamente com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha e deverão ser utilizados como adjuvantes nos esforços de controlo de infeção nosocomial para identificar doentes que necessitem de precauções reforçadas. Os resultados não deverão ser utilizados para orientar ou monitorizar o tratamento de infeções por MRSA ou SA.
- Resultados de teste incorretos podem ser originados por uma incorreta colheita de amostras, incumprimento dos procedimentos recomendados para colheita, manuseamento e conservação de amostras, erro técnico, troca de amostras ou porque o número de organismos na amostra é demasiado baixo para ser detetado pelo teste. Para se evitarem resultados incorretos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.
- Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de MRSA ou SA.
- O resultado positivo do ensaio Xpert SA Nasal Complete não indica necessariamente a falha da intervenção de erradicação, uma vez que pode persistir ADN não-viável. Um resultado de teste negativo que se siga a um resultado de teste previamente positivo pode ou não indicar o sucesso da erradicação.
- Não foram estabelecidas características de desempenho para doentes com ≤ 21 anos de idade.
- Dado que a deteção de MRSA e SA depende do número de organismos presentes na amostra, resultados fiáveis dependem da colheita, manuseamento e conservação de amostras adequados.
- 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.
- Em amostras que contenham o MRSA e o SA, o ensaio Xpert SA Nasal Complete pode não detetar os organismos de MRSA. O estudo clínico principal incluiu uma amostra com infeção mista de MRSA/SA documentada; o ensaio Xpert SA Nasal Complete identificou com sucesso a amostra como MRSA positivo/SA positivo.
- Numa cultura mista, o LoD analítico do MRSA é variável quando estão presentes concentrações de SA extremamente elevadas. Foi observada concorrência do SA numa razão MRSA:SA de $1:1 \times 10^6$ em 7 de 8 tipos de SCCmec testados. Para o tipo VIII de SCCmec, a concorrência do SA foi observada numa razão MRSA:SA de $1:1 \times 10^3$.
- Foi observada inibição do ensaio SA Nasal Complete originando resultados de teste inválidos na presença dos esteroides nasais inalados Flonase e Nasonex em amostras negativas para SA com concentrações superiores a 5% (v/v) e 10% (v/v), respetivamente.
- Foi observada inibição do ensaio SA Nasal Complete originando resultados de teste falsos negativos na presença dos esteroides nasais inalados Flonase e Nasonex em amostras positivas para MRSA com concentrações superiores a 1% (v/v) e 5% (v/v), respetivamente.
- O ensaio Xpert SA Nasal Complete poderá gerar um resultado falso positivo para MRSA ao testar uma amostra nasal com infeção mista contendo *Staphylococcus* resistente à metilina coagulase-negativo e SA de cassete vazia.
- O ensaio Xpert SA Nasal Complete poderá gerar resultados falsos negativos para MRSA ao testar *S. aureus* com resistência limite à oxacilina (BORSA). O mecanismo de resistência à oxacilina em estirpes BORSA deve-se a uma maior produção de β -lactamases, não ao gene *mecA*. As estirpes BORSA com CIM de oxacilina de 4 a 8 $\mu\text{g/ml}$ são consideradas como tendo resistência limite, mas seriam indicadas como negativas para MRSA pelo ensaio Xpert SA Nasal Complete. As estirpes BORSA são raras nos EUA.

- O ensaio Xpert SA Nasal Complete pode gerar resultados falsos negativos para MRSA ao testar *S. aureus* modificado (MOD-SA). O mecanismo de resistência à oxacilina em estirpes MOD-SA deve-se a alterações na afinidade das proteínas de ligação à penicilina para a oxacilina, não ao gene *mecA*. Os MOD-SA com CIM de oxacilina de 4 a 8 µg/ml são considerados com resistência limite, mas seriam indicados como negativos para MRSA pelo ensaio Xpert SA Nasal Complete. As estirpes MOD-SA são raras nos EUA.
- Poderá haver uma associação com resultados falsos positivos em amostras que contenham sangue.
- Tal como com todos os testes para diagnóstico *in vitro* baseados em PCR, podem ser detetados níveis extremamente baixos do alvo inferiores ao LoD do ensaio, mas os resultados podem não ser reprodutíveis. (Consulte a Secção 19., Reprodutibilidade)
- O resultado do ensaio Xpert SA Nasal Complete pode por vezes ser **INVÁLIDO (INVALID)**, devido a uma falha do controlo SPC, **ERRO (ERROR)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, sendo necessária a repetição do teste, o que poderá atrasar a obtenção de resultados finais.
- Tal como com todos os testes para diagnóstico *in vitro*, os valores preditivos positivo e negativo dependem em grande medida da prevalência. O desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete pode variar, dependendo da prevalência e da população testada.

16. Valores esperados

Foi incluído no estudo clínico do Xpert SA Nasal Complete um total de 2487 amostras nasais de 8 instituições dos EUA. O número e a percentagem de casos positivos pelo método de cultura de referência, calculados por grupo etário, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Prevalência observada de MRSA e SA por cultura

Grupo etário	N total	MRSA por cultura		SA por cultura	
		Número de positivos	Prevalência observada	Número de positivos	Prevalência observada
Idade entre 22 e 30	325	10	3,1%	71	21,8%
Idade entre 31 e 40 anos	359	17	4,7%	84	23,4%
Idade entre 41 e 50 anos	459	28	6,1%	118	25,7%
Idade entre 51 e 60 anos	487	36	7,4%	141	29,0%
Idade entre 61 e 70 anos	315	25	7,9%	75	23,8%
Idade >70 anos	542	57	10,5%	138	25,5%

17. Características do desempenho

17.1 Desempenho clínico

As características de desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete foram determinadas num estudo multicêntrico de investigação prospetiva em oito instituições dos EUA, comparando o ensaio Xpert SA Nasal Complete com a cultura de referência.

Foi colhida uma zaragatoa dupla de cada sujeito. Uma zaragatoa foi testada pelo ensaio Xpert SA Nasal Complete no centro de inscrição e a outra foi enviada para o laboratório central para teste de cultura de referência.

No laboratório central, a amostra foi enriquecida durante uma noite em meio líquido de tripticase de soja com NaCl a 6,5%. Foi depois feita uma cultura por riscas do meio líquido de tripticase de soja numa placa de ágar com sangue de carneiro.

A confirmação de colónias presumivelmente positivas foi realizada com catalase, coagulase em tubo e coloração de Gram.

A resistência à oxacilina mediada pelo *mecA* foi testada através de teste de difusão em disco, utilizando um disco de 30 µg de cefoxitina e cutoff ≤ 21 mm (R), ≥ 22 mm (S).

O desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete foi calculado em relação aos resultados da cultura de referência.

17.2 Resultados totais

Foi testado um total de 2487 amostras para MRSA e SA pelo ensaio Xpert SA Nasal Complete e por cultura enriquecida de ágar-sangue.

Os doentes medicados com antibióticos dentro de 7 dias da colheita da amostra não foram elegíveis para inclusão. Entre os 2487 casos no conjunto de dados elegíveis, foi relatada a utilização de antibióticos dentro de 7 a 21 dias antes da colheita da amostra para 141 sujeitos, e a não utilização de antibióticos foi confirmada para 2323; desconhece-se o estado de toma de antibióticos em 23 casos. Não existiu nenhuma diferença estatisticamente significativa na taxa de positividade da cultura nem no desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete com base no estado de toma de antibióticos.

Uma das culturas positivas para MRSA tinha infecções mistas por MRSA e *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina. O Xpert SA Nasal Complete identificou corretamente esta amostra como MRSA positiva/SA positiva.

O desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete é apresentado sumariamente na Tabela 2.

Tabela 2. Desempenho do ensaio SA Nasal Complete vs. cultura de referência

		Cultura de referência			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Sem crescimento	Total
Xpert	MRSA+	159	24	25	208
	SA+/MRSA-	9	393	152	554
	SA-	5	37	1683	1725
	Total	173	454	1860	2487
		MRSA: Sensibilidade: 91,9% (159/173) (IC de 95%: 86,8-95,5%) Especificidade: 97,9% (2265/2314) (IC de 95%: 97,2-98,4%) VPP: 76,4% (159/208) (IC de 95%: 70,1-82,0%) VPN: 99,4% (2265/2279) (IC de 95%: 99,0-99,7%) SA: Sensibilidade: 93,3% (585/627) (IC de 95%: 91,1-95,1%) Especificidade: 90,5% (1683/1860) (IC de 95%: 89,1-91,8%) VPP: 76,8% (585/762) (IC de 95%: 73,6-79,7%) VPN: 97,6% (1683/1725) (IC de 95%: 96,7-98,2%)			

Dos ensaios Xpert SA Nasal Complete realizados em amostras elegíveis, 96,5% (2487/2578) destas amostras foram bem sucedidas na primeira tentativa. As restantes 91 apresentaram resultados indeterminados na primeira tentativa (31 **INVÁLIDO (INVALID)**, 51 **ERRO (ERROR)** e 9 **SEM RESULTADO (NO RESULT)**). O desenho do estudo não permitia repetir testes.

17.3 Variantes de cassete vazia

Para um isolado ser identificado como positivo para MRSA com o ensaio Xpert SA Nasal Complete, o teste para *spa* tem de ser positivo, assim como o teste para *mecA* e *SCCmec*. Um isolado que é positivo para *spa* e *SCCmec*, mas não para *mecA*, é indicado como SA porque é sensível à meticilina. Esta situação pode ocorrer quando a porção do elemento *SCCmec* que transporta *mecA* é extraída, mas os terminais deste elemento móvel permanecem no local, produzindo um sinal de *SCCmec* positivo. Estes isolados são por vezes chamados “variantes de cassete vazia” e não são raros no ambiente clínico. Estes isolados são significativos porque poderão potencialmente confundir um ensaio para MRSA que não detete diretamente o gene *mecA*. O ensaio Xpert SA Nasal Complete foi concebido para identificar corretamente estas variantes como SA.

Entre as amostras elegíveis incluídas nas análises de dados apresentadas neste relatório, um total de 14 isolados encaixam no perfil de cassete vazia, originando resultados de testes positivos para *spa* e *SCCmec*, mas não deteção de *mecA* (Ct = 0) como se mostra na Tabela 3. Todas as 14 amostras foram confirmadas como isolados verdadeiros negativos para MRSA, e isolados verdadeiros positivos para SA em relação à cultura de referência.

Tabela 3. Desempenho do SA Nasal Complete vs. cultura de referência – Variantes de cassete vazia

N.º do sujeito	Xpert Resultado	spa (Ct)	mecA (Ct)	SCCmec (Ct)	Cultura	Xpert vs. cultura	
						MRSA	SA
1	SA	34,2	0	36,2	SA	VN	VP
2	SA	32,4	0	34,3	SA	VN	VP
3	SA	24,6	0	26,3	SA	VN	VP
4	SA	26,9	0	29,0	SA	VN	VP
5	SA	29,1	0	31,1	SA	VN	VP
6	SA	24,4	0	26,8	SA	VN	VP
7	SA	31,8	0	33,6	SA	VN	FP
8	SA	32,3	0	34,7	SA	VN	VP
9	SA	28,5	0	31,1	SA	VN	VP
10	SA	25,8	0	27,5	SA	VN	VP
11	SA	17,4	0	19,7	SA	VN	VP
12	SA	17,4	0	18,9	SA	VN	VP
13	SA	26,9	0	29,7	SA	VN	VP
14	SA	22,6	0	24,6	SA	VN	VP

18. Desempenho analítico

18.1 Especificidade analítica (exclusividade)

Estudo de reatividade cruzada

Foram testadas cento e catorze (114) estirpes filogeneticamente relacionadas com *Staphylococcus aureus* ou com as espécies potencialmente presentes na flora nasofaríngea utilizando o ensaio Xpert SA Nasal Complete. Destas, 103 foram obtidas a partir da American Type Culture Collection (ATCC), 2 foram obtidas a partir da Coleção de Culturas da Universidade de Gotemburgo, na Suécia (CCUG), 1 foi obtida a partir da Coleção Alemã de Microorganismos e Culturas Celulares (DSM), 1 foi obtida a partir de Teruyo Ito, Universidade Juntendo, em Tóquio, no Japão e 7 foram obtidas a partir da Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA).

Os organismos testados foram identificados como Gram-positivos (83), Gram-negativos (28) ou leveduras (3). Destes, foram incluídos estafilococos sensíveis à metilina coagulase-negativos, MSCoNS (34) e estafilococos resistentes à metilina coagulase-negativos, MRCoNS (12). Os organismos foram ainda classificados como aeróbios (106) ou anaeróbios (8).

Três (3) réplicas de cada isolado foram testadas em 4,5 a 9,5×10⁸ UFC/ml ou 1,7 a 3,2 unidades McFarland. Nas condições deste estudo, todos os isolados foram indicados como **MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)** pelo ensaio Xpert SA Nasal Complete. A especificidade analítica do ensaio Xpert SA Nasal Complete foi de 100%. Estes resultados demonstram que uma amostra que contenha espécies não *Staphylococcus aureus* (>1×10⁸ UFC/ml) não irá produzir um resultado de teste falso positivo para MRSA/SA utilizando o ensaio Xpert SA Nasal Complete.

Avaliação das estirpes BORSA

Foram testadas sete (7) estirpes bem caracterizadas de *Staphylococcus aureus* com resistência limite à oxacilina (BORSA), incluindo uma aparente “cassete vazia” (ver acima). O *Staphylococcus aureus* resistente à metilina é resistente a todos os fármacos β-lactâmicos através da proteína de ligação à penicilina alternativa PBP2a, codificada pelo *mecA*. As estirpes BORSA são negativas para o *mecA*, mas exibem uma concentração inibitória mínima (CIM) de oxacilina de ≥ 1 e ≤ 8 µg/ml. A distinção entre MRSA e BORSA tem especial valor para ajudar a implementar as opções adequadas de precaução no controlo e isolamento de doentes infetados com estirpes de *S. aureus* suscetíveis à metilina.

Nas condições deste estudo, todos os 7 isolados BORSA (incluindo o aparente isolado “cassete vazia”) foram indicados como **MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)**, tanto com altas como com baixas concentrações celulares utilizando o ensaio Xpert SA Nasal Complete. Não foram indicados sinais de *mecA*. Estes resultados demonstram que uma estirpe BORSA será corretamente identificada como **MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** e que não se obterá um resultado de teste falso positivo para MRSA com o ensaio Xpert SA Nasal Complete.

18.2 Sensibilidade analítica

Limite dos estudos de detecção

Foram realizados estudos para determinar os intervalos de confiança de 95% para o limite de detecção (LoD) analítico de células de *Staphylococcus aureus* sensíveis à meticilina e de células de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) diluídas numa matriz nasal simulada. A matriz nasal consistiu em mucina e sangue em PBS com 15% de glicerol. O limite de detecção é definido como o número mais baixo de unidades formadoras de colónias (UFC) por amostra que pode ser continuamente reproduzido e distinguido de amostras negativas com 95% de confiança, ou como a menor concentração na qual 19 de 20 réplicas são positivas.

Para o SA, réplicas de 20 foram avaliadas em várias concentrações para três (3) isolados individuais. Os tipos USA900 e USA1200 estiveram representados.

Para o MRSA, réplicas de 20 foram avaliadas em várias concentrações para dez (10) isolados individuais representando os tipos de SCCmec I, II, III, IVa, IVd, V, VI, VII e VIII. Na caracterização por eletroforese de gel em campo pulsado (PFGE), estão representadas a USA100, a estirpe mais comumente adquirida em estabelecimentos de saúde e a USA400, uma das estirpes mais comumente adquiridas em comunidades. Foram incluídos isolados indicados como contendo subpopulações heterogêneas em relação ao seu fenótipo de resistência à oxacilina.

A estimativa e os intervalos de confiança foram determinados utilizando a regressão logística com dados (número de resultados positivos por número de réplicas em cada nível) no intervalo de UFC/zaragatoa testados. Os intervalos de confiança foram determinados utilizando estimativas de probabilidade máxima nos parâmetros do modelo logístico, utilizando a matriz de variância-covariância para amostras grandes. As estimativas do ponto de LoD e os intervalos de confiança de 95% superiores e inferiores para cada SA e cada tipo de SCCmec de MRSA testado são apresentados resumidamente nas Tabela 4 e Tabela 5.

Tabela 4. Intervalos de confiança de 95% para o LoD analítico — SA

ID da estirpe de SA	PFGE	Est. do LoD (UFC/zaragatoa)	Inferior IC de 95%	Superior IC de 95%
N7129	USA900	154	132	197
102-04	USA1200	128	109	177
29213	Desconhecido	94	76	138

Tabela 5. Intervalos de confiança de 95% para o LoD analítico — MRSA

ID da estirpe de MRSA	Tipo SCCmec	PFGE	Est. do LoD (UFC/zaragatoa)	Inferior IC de 95%	Superior IC de 95%
64/4176	I	USA500	79	64	119
N315	II	USA100	94	76	131
BK2464	II	USA100	143	116	212
11373	III	Desconhecido	52	42	77
MW2	IVa	USA400	85	69	130
BK2529 ¹	IVd	USA500	256	216	334
ST59-MRSA-V	V	USA1000	127	105	170
HDE288 ¹	VI	USA800	97	78	141
JCSC6082	VII	Desconhecido	214	182	276
WA MRSA-16	VIII	Desconhecido	292	259	384

¹ Isolados heterogêneos resistentes à oxacilina.

Os resultados deste estudo indicam que o ensaio Xpert SA Nasal Complete produz um resultado positivo para SA 95% das vezes com 95% de confiança para um esfregaço nasal contendo 175 UFC e um resultado positivo para MRSA 95% das vezes com 95% de confiança para um esfregaço nasal contendo 300 UFC.

18.3 Reatividade analítica (Inclusividade)

Foram testadas duzentas e quarenta e oito (248) estirpes de *Staphylococcus aureus* utilizando o ensaio Xpert SA Nasal Complete. Todas as estirpes foram testadas em triplicado utilizando stocks celulares diluídos em concentrações equivalentes ou próximas do cutoff do ensaio. As unidades formadoras de colônias por teste foram determinadas por contagem de placas com o mesmo volume e diluição.

Estirpes de MRSA (199) e de *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (49) foram selecionadas para representar geralmente a amplitude de diversidade genética encontrada na espécie *Staphylococcus aureus* com base na estrutura filogenética. As seleções representam linhagens primárias com ênfase em complexos clonais específicos dentro dos quais é predominantemente observado o MRSA. Foram incluídas linhagens que contêm MRSA e *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina, bem como aquelas que contêm exclusivamente *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina.

O ensaio Xpert SA Nasal Complete identificou corretamente todas as 248 estirpes de *Staphylococcus aureus*: 49 como **MRSA NEGATIVO, SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE, SA POSITIVE)**; 199 como **MRSA POSITIVO, SA POSITIVO (MRSA POSITIVE, SA POSITIVE)**. As estirpes representam os grupos de Cooper e Feil 1A, 1B e 2, 12 tipos e subtipos de *SCCmec* (I, II, III, IV, IVa, IVb, IVc, IVd, V, VI, VII e VIII), 24 tipos de sequência (ST), 75 tipos de *spa*, 13 tipos de PFGE e 18 complexos clonais (CC).

Cada um dos 39 isolados USA300 conhecidos foi corretamente indicado como **MRSA POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)**. As variantes de cassette vazia, estirpes BORSA e estirpes heterorresistentes foram todas corretamente identificadas com o ensaio Xpert SA Nasal Complete.

18.4 Substâncias que interferem

No estudo de investigação para o ensaio Xpert SA Nasal Complete, foi observado muco em 63 das 2487 amostras, sangue em 32, e outras substâncias não específicas em 7, que poderiam potencialmente interferir com o ensaio (de notar que algumas amostras continham mais do que um tipo de potencial contaminante). Os testes exatos de Fisher realizados nos dados gerados de zaragatoas com e sem estas potenciais substâncias interferentes demonstraram que a sua presença não afetou a sensibilidade ao MRSA, a sensibilidade ao SA e a especificidade do SA. Em relação à especificidade do MRSA, houve uma taxa de falsos positivos ligeiramente superior à esperada associada a amostras contendo sangue.

Num estudo não-clínico, potenciais substâncias interferentes passíveis de estarem presentes em amostras nasais clínicas foram avaliadas diretamente em relação ao desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete. As substâncias potencialmente interferentes em amostras nasais podem incluir, entre outras: sprays nasais, soro fisiológico, descongestionantes e anti-histamínicos (incluindo esteroides nasais inalados), sangue humano e muco. As substâncias testadas estão discriminadas na Tabela 6, mostrando-se os ingredientes ativos e as concentrações testadas.

Nas condições deste estudo, não foram observados efeitos inibitórios estatisticamente significativos em amostras negativas ou positivas na presença de sangue humano, muco e dos seguintes sprays nasais testados em concentrações de 100% (v/v): Anefrin, NasalCrom, Neo-Synephrine, soro fisiológico, Rhinolast (Astelin) e gel Zicam. As amostras positivas consistiram em dois isolados clínicos cada de SA (N7129 e 102-04) e dos tipos de *SCCmec* de MRSA II (N315) e IVa (MW2) adicionados perto do LoD analítico determinado para cada isolado.

Foram observados efeitos inibitórios no ensaio SA Nasal Complete, originando resultados de teste inválidos na presença dos esteroides nasais inalados Flonase e Nasonex em amostras negativas com concentrações superiores a 5% (v/v) e 10% (v/v), respetivamente. Foram observados efeitos inibitórios no ensaio SA Nasal Complete, originando resultados de teste falsos negativos na presença dos esteroides nasais inalados Flonase e Nasonex em cada isolado MRSA com concentrações superiores a 1% (v/v) e 5% (v/v), respetivamente.

Tabela 6. Potenciais substâncias nasais interferentes testadas

Substância	Ingrediente ativo	% testada
Tampão TET (controlo)	Controlo	Controlo
Muco (mucina)	Mucina porcina representando proteínas densamente glicosiladas (muco)	5% (p/v)
Spray Anefrin (descongestionante)	Cloridrato de oximetazolina a 0,05%	100% (v/v)
Sangue	N. a.	100% (v/v)
NasalCrom (controlador de sintomas de alergia nasal)	5,2 mg de cromoglicato de sódio	100% (v/v)
Neo-Synephrine (descongestionante nasal)	Cloridrato de fenilefrina a 0,5%	100% (v/v)
Spray nasal hidratante de soro fisiológico	Cloreto de sódio a 0,65%	100% (v/v)
Gel nasal Zicam (alívio de sintomas de alergia das vias respiratórias superiores)	4x, 12x, 30x Luffa operculata 12x, 30x Galphimia glauca 12x, 30x, 200x Cloridrato de histamina 12x, 30x, 200x Enxofre	100% (v/v)
Nasonex (medicação para sintomas de alergia nasal, esteroide nasal inalado)	Monoidrato de furoato de mometasona a 0,05% (corticosteroide anti-inflamatório)	100% (v/v) 50% (v/v) 25% (v/v) 10% (v/v) 5% (v/v)
Flonase (esteroide nasal inalado)	Propionato de fluticasona a 0,05% (corticosteroide)	100% (v/v) 50% (v/v) 25% (v/v) 10% (v/v) 5% (v/v) 1% (v/v)
Rhinolast (spray nasal anti-histamínico Astelin)	Cloridrato de azelastina a 0,1%	100% (v/v)

18.5 Avaliação das variantes de cassete vazia

Foram testados vinte e dois (22) isolados de *Staphylococcus aureus* identificados como “variantes de cassete vazia” utilizando o ensaio Xpert SA Nasal Complete. As culturas de um dia para o outro foram ajustadas para 0,5 unidades McFarland ($\sim 3 \times 10^8$ UFC/ml). As culturas foram diluídas ainda mais 100 mil vezes ou ~ 3000 UFC/ml. Cada isolado foi adicionado ao reagente tampão de eluição Xpert SA Nasal Complete em ~ 300 UFC/teste (próximo do LoD do teste) e em $\sim 3 \times 10^5$ UFC/teste.

Todos os 22 isolados foram corretamente indicados como **MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** em ambas as concentrações celulares. Não foram indicados sinais de *mecA*. Estes resultados demonstram que uma “variante de cassete vazia” é corretamente identificada como **MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** e que não indicará um resultado de teste falso positivo com o ensaio Xpert SA Nasal Complete.

18.6 Estudo de contaminação por transferência (carry-over)

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência de amostras negativas processadas no mesmo módulo GeneXpert após amostras positivas muito elevadas. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert imediatamente após uma amostra positiva para MRSA muito elevada (aproximadamente 10^7 UFC/teste). Isto foi repetido 20 vezes entre 2 módulos GeneXpert, perfazendo um total de 42 processamentos. Não se encontraram quaisquer evidências de contaminação por transferência. Todas as 20 amostras negativas processadas imediatamente após amostras positivas muito elevadas foram corretamente indicadas como **MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)**. Todas as 20 amostras positivas foram corretamente indicadas como **MRSA POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)**.

19. Reprodutibilidade

Foi testado um painel de 10 amostras com concentrações variáveis de SA, MRSA e Staphylococcus epidermidis (negativo) em duplicado em 10 dias diferentes em cada um dos três locais (10 amostras x 2 vezes/dia x 10 dias x 3 locais). Foi utilizado um lote do kit Xpert SA Nasal Complete em cada um dos 3 locais de teste. Os ensaios Xpert SA Nasal Complete foram realizados de acordo com o procedimento Xpert SA Nasal Complete. Os resultados são apresentados resumidamente nas Tabela 7 e Tabela 8. De notar que, devido às concentrações de amostras negativas elevadas estarem próximas do LoD, eram esperados alguns resultados positivos.

Tabela 7. Sumário dos resultados de reprodutibilidade (todos)¹

ID da amostra	Local 1	Local 2	Local 3	Concordância total
Neg. (MSSE)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
SA – Neg. elevado	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	95,0% (57/60)
SA – Pos. baixo	85,0% (17/20)	95,0% (19/20)	100% (20/20)	93,3% (56/60)
SA – Pos. mod.	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA1 – Neg. elevado	100% (20/20)	95,0% (19/20)	85,0% (17/20)	93,3% (56/60)
MRSA1 – Pos. baixo	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	100% (20/20)	96,7% (58/60)
MRSA1 – Pos. mod.	95,0% (19/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	98,3% (59/60)
MRSA2 – Neg. elevado	60,0% (12/20)	60,0% (12/20)	50,0% (10/20)	56,7% (34/60)
MRSA2 – Pos. baixo	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	95,0% (57/60)
MRSA2 – Pos. mod.	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
% de concordância total por local	92,5% (185/200)	93,5% (187/200)	92,5% (185/200)	92,8% (557/600)

¹ Para amostras negativas e negativas elevadas, a % de concordância = (n.º de resultados negativos/total de amostras processadas); para amostras positivas baixas e moderadas, a % de concordância = (n.º de resultados positivos/total de amostras processadas).

Tabela 8. Sumário de resultados do valor Ct por nível e alvo da amostra

SPC			
Nível	Média aritmética	Desv. pad.	% CV
Neg. (MSSE)	34,3	0,72	2,1
SA Neg. elevado	34,3	0,75	2,2
MRSA1 Neg. elevado	34,6	0,86	2,5
MRSA2 Neg. elevado	34,6	0,75	2,2
Spa			
Nível	Média aritmética	Desv. pad.	% CV
SA Pos. baixo	33,7	0,91	2,7
SA Pos. moderado	31,6	0,71	2,2
MRSA1 Pos. baixo	32,6	1,53	4,7
MRSA1 Pos. moderado	31,7	0,79	2,5
MRSA2 Pos. baixo	32,7	0,97	3,0
MRSA2 Pos. moderado	30,6	0,85	2,8
mecA			
Nível	Média aritmética	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Pos. baixo	33,3	0,88	2,6
MRSA1 Pos. moderado	32,2	0,82	2,5
MRSA2 Pos. baixo	33,4	1,02	3,1
MRSA2 Pos. moderado	31,1	0,75	2,4
SCCmec			
Nível	Média aritmética	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Pos. baixo	34,1	0,86	2,5
MRSA1 Pos. moderado	32,9	0,79	2,4
MRSA2 Pos. baixo	34,6	1,19	3,4
MRSA2 Pos. moderado	32,5	0,80	2,5

20. Referências

1. Bode LGM, Kluytmans JAJW, Wertheim HFL, et al. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med. 2010;362(1):9-17.
2. Wenzel, RP. Editorial: Minimizing Surgical-Site Infections. N Engl J Med. 2010;362(1):75-77.
3. Bannerman TL. Chapter 28: *Staphylococcus*, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, D.C. 2003; 384-404.
4. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004. Am J Infect Control 2004; 32:470-485.
5. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. Control of endemic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. J Am Medical Assoc. 1999; 282(19):1745-1751.
6. Das I, O'Connell N, Lambert P. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. 1: J Hosp Infect. 2007 Feb;65(2):117-23.
7. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 7(2):323-326.
8. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. Cleveland Clinic J Med. 72(3):235-241.
9. 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.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
11. 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)).
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

21. 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

22. 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>.

23. Tabela de símbolos

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



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089-1189
 EUA
 Telefone: + 1 408 541 4191
 Fax: + 1 408 541 4192

Cepheid Europe S.A.S.
 Vira Solelh
 81470 Maurens-Scopont
 França
 Tel.: + 33 563 82 53 00
 Fax: + 33 563 82 53 01



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



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