

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

REF GXMRSA/SA-BC-10

Instruções de Utilização

IVD **R_xonly**

Declarações relativas a marcas comerciais, patentes e copyright

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

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

© 2012-2024 Cepheid.

See Section 20, Revision History, for a description of changes.

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

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

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

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

© 2012-2024 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações na 20 Histórico de revisões.

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.



1 Nome Proprietário

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

2 Nome comum ou usual

Xpert MRSA/SA Blood Culture

3 Utilização Prevista

O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture da Cepheid[®] realizado nos sistemas de instrumento GeneXpert[®] é um teste qualitativo para diagnóstico *in vitro* concebido para a detecção de ADN de *Staphylococcus aureus* (SA) e de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) diretamente a partir de hemoculturas positivas. O teste utiliza reação em cadeia da polimerase (PCR) automática em tempo real para a amplificação de alvos de ADN de MRSA/SA específicos e sondas de hibridização fluorescentes específicas para os alvos, para a detecção em tempo real do ADN amplificado. Este ensaio é realizado diretamente em amostras de hemocultura positivas utilizando frascos de hemocultura BD BACTEC[™] Plus Aerobic/F, BacT/ALERT[®] SA (Standard Aerobic) ou VersaTREK REDOX 1[®] (aeróbio) determinadas como sendo cocos Gram-positivo em aglomerados (GPCC) ou cocos Gram-positivo individuais (GPC) por coloração de Gram. O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture é indicado para utilização em conjunção com outros testes laboratoriais, como a cultura e dados clínicos de que o médico disponha, como adjuvante na detecção de MRSA/SA a partir de hemoculturas positivas. É necessária a subcultura de culturas de sangue positivas para recolher organismos para testes de suscetibilidade ou tipagem epidemiológica. O teste Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture não se destina à monitorização do tratamento de infeções por MRSA/SA.

4 Resumo e explicação

O *Staphylococcus aureus* (SA) é um agente patogénico humano causador de diversas doenças, incluindo bacteriemia, endocardite, osteomielite, síndrome de choque tóxico, intoxicação alimentar, carbúnculos e furúnculos. No início da década de 1950, a aquisição e propagação de plasmídeos produtores de beta-lactamase prejudicou a eficácia da penicilina no tratamento de infeções por SA. Em 1959, foi introduzida a metilina, uma penicilina semissintética e, pouco tempo depois, foram identificadas estirpes de SA resistente à metilina (MRSA). Sabe-se, agora, que a resistência é conferida quando o SA adquire o complexo de gene *mec*, que contém o gene *mecA* e, potencialmente, outras variantes de *mecA*, como *mecA*_{LGA251}, designado por *mecC*. Atualmente, nos EUA, o MRSA é responsável por aproximadamente 25% das infeções associadas a cuidados de saúde, resultando em morbidade e mortalidade significativas. Foram comunicadas mortalidades atribuíveis significativas para bacteriemias causadas por MRSA e SA suscetível à metilina (MSSA). O método padrão utilizado atualmente para detetar SA, incluindo MRSA, em frascos de hemocultura é a cultura *in vitro*. A existência de um método rápido e sensível para testar SA, incluindo MRSA, poderá beneficiar a saúde pública.^{1,2,3,4,5,6}

5 Princípio do Procedimento

Os sistemas do instrumento GeneXpert automatizam e integram a preparação de amostras, a purificação e amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-carregado para execução de testes e

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

O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture inclui reagentes para a deteção de MRSA e SA, bem como um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC) para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e para indicar a presença de inibidor(es) na reação PCR. O SPC também assegura que as condições da reação PCR (temperatura e tempo) são apropriadas para a reação de amplificação e que os reagentes da PCR se encontram funcionais. Um controlo interno adicional, 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 primers e as sondas no teste Xpert MRSA/SA Blood Culture detetam sequências exclusivas para a proteína estafilocócica A (*spa*), o gene de resistência à metilina (*mecA*) e a cassete cromossómica estafilocócica *mec* (*SCCmec*) inserida no cromossoma SA no local *attB*. Os alvos são utilizados individual ou conjuntamente para identificar e distinguir SA e MRSA.

No caso da presença de MRSA num frasco de hemocultura na ausência de outras espécies bacterianas, o ensaio utiliza algoritmos baseados em regras em que os valores de limiar de ciclo (Cycle threshold, Ct) dos três alvos (*spa*, *mecA* e *SCCmec*) são comparados para designar se os alvos derivam do mesmo microrganismo de MRSA. Considera-se que MRSA se encontra presente quando: 1) os três alvos têm valores de Ct dentro do intervalo válido e endpoints (pontos finais) superiores à definição mínima, 2) na ausência de *SCCmec*, as condições do algoritmo baseado em regras são cumpridas para os valores de Ct de *mecA* e *spa* ou 3) na ausência de *spa*, as condições do algoritmo baseado em regras são cumpridas para os valores de Ct de *mecA* e *SCCmec*.

6 Reagentes

6.1 Materiais Fornecidos

O kit do Xpert MRSA/SA Blood Culture contém reagentes suficientes para o processamento de 10 amostras de pacientes ou amostras de controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Cartuchos do Xpert MRSA/SA Blood Culture com tubos de reação integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas) 	1 de cada por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> Reagente 1 	3 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> Reagente 2 (Hidróxido de Sódio) 	3 ml por cartucho
Reagente de eluição do Xpert MRSA/SA Blood Culture (Hidrocloreto de Guanidina e tensioativos)	10 x 2,0 ml
Pipetas de transferência descartáveis de volume fixo (50 µl)	12
CD	1 por kit
Ficheiro de Definição do Teste (ADF)	
Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert	
Instruções de utilização (folheto informativo)	

Nota As fichas de dados de segurança (FDS) encontram-se disponíveis em <http://www.cephheid.com> ou <http://www.cephheidinternational.com> no separador ASSISTÊNCIA (SUPPORT).

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

6.2 Conservação e manuseamento

- Conserve os cartuchos e reagentes do Xpert MRSA/SA Blood Culture 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.

6.3 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: Software GeneXpert Dx, versão 5.3 ou posterior
 - Para sistemas GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: Software Xpertise versão 6.8 ou posterior
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Agitador de vórtice
- Pipetas de transferência descartáveis (para transferir a amostra para o cartucho)

6.4 Materiais disponíveis, mas não fornecidos

Os KWIK-STIK™ da Microbiologics com n.º de catálogo 0158MRSA (SCC*mec* tipo II) e n.º de catálogo 0360MSSA (*Staphylococcus aureus* subesp. *aureus*) podem ser utilizados como controlos positivos externos e o n.º de catálogo 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* suscetível à meticilina) como controlo negativo externo.

7 Advertências e precauções

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Para utilização apenas com receita médica.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber se uma amostra específica poderá ser infecciosa, todas as amostras biológicas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. As orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças) dos EUA⁷ e no Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais)⁸.
- As Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde). Consulte os técnicos responsáveis pelos resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados.⁹
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture não fornece resultados de testes de suscetibilidade antimicrobiana. Para fins de testes de suscetibilidade, deverá ser realizada a subcultura adicional de todas as hemoculturas positivas.
- Numa cultura mista que contenha MRSA/SA e outros microorganismos (*por ex.*, bacilos Gram-negativo, 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 (Limit of Detection, LoD) do ensaio.
- Não substitua o reagente de eluição do Xpert MRSA/SA Blood Culture por outros reagentes.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou sido agitado.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Não utilize nenhum reagente que esteja turvo ou que apresente alteração da cor.
- Não utilize um cartucho novo com fuga. A existência de líquido no exterior de um cartucho gasto poderá indicar um problema.
- Cada cartucho de utilização única do Xpert MRSA/SA Blood Culture é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.

- Consultar os técnicos responsáveis pelos resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não utilizados. Este material pode apresentar características de resíduos perigosos segundo a Lei de Recuperação e Conservação de Recursos (RCRA) da Agência de Proteção Ambiental (EPA), que exijam requisitos de eliminação específicos. Verificar as regulamentações estaduais e locais, uma vez que poderão diferir das regulamentações federais de eliminação de resíduos. As instituições devem verificar os requisitos de eliminação de resíduos perigosos dos respetivos países.
- O reagente 2 contém hidróxido de sódio (H302, H315, H319), o qual é nocivo para os olhos e a pele, exigindo a utilização de proteção dos mesmos.
- O reagente de eluição contém hidrócloro de guanidina (H302, H315, H319), o qual é nocivo para os olhos e a pele, exigindo a utilização de proteção dos mesmos.
- Os meios de hemocultura que contenham carvão ativado não podem ser utilizados com o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture só deve ser utilizado para testar frascos de hemocultura positivos para crescimento microbiano e comprovados por coloração de Gram como contendo cocos Gram-positivo em aglomerados (Gram-Positive Cocci in Clusters, GPCC) ou cocos Gram-positivo (GPC) individuais.


8 Colheita, transporte e conservação de amostras

- Quando forem positivos para crescimento, retire os frascos de hemocultura da incubação. Terá de ser realizada uma coloração de Gram na hemocultura positiva, seguindo o procedimento laboratorial padrão.
- No caso de frascos de hemocultura comprovados por coloração de Gram como contendo cocos Gram-positivo em aglomerados (GPCC) ou cocos Gram-positivo (GPC) individuais, colha aproximadamente 1 ml da amostra de hemocultura positiva e etiquete com a ID da amostra.

Nota Os resultados das culturas de sangue são críticos para os cuidados prestados ao doente. Siga as orientações e políticas estabelecidas no seu laboratório/na sua instituição para notificar (por meio verbal, escrito ou eletrónico) os prestadores de cuidados de saúde sobre resultados de hemocultura positivos.

- Se a amostra for testada no prazo de 24 horas, refrigere a 2 °C - 8 °C ou conserve à temperatura ambiente. Se a amostra for testada após 24 horas, refrigere a 2 °C - 8 °C por um período máximo de três dias. Amostras que tenham sido conservadas à temperatura ambiente durante mais de 24 horas ou refrigeradas a 2 °C - 8 °C durante mais de três dias não devem ser analisadas com o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture.

9 Riscos químicos^{10,11}

- 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.
 - 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 informações suplementares de primeiros-socorros no presente rótulo).
 - 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. Continue a enxaguar.

- Caso a irritação ocular persista: Consulte um médico
- EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTIVENENOS ou um médico.
- Enxaguar a boca.
- **Conservação/Eliminação**
 - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

10 Procedimento

10.1 Preparação do Cartucho

Importante Caso utilize um instrumento GeneXpert Dx, inicie o teste no espaço de 3 horas após a adição da amostra preparada ao cartucho. Caso utilize um sistema GeneXpert Infinity, certifique-se de que inicia o teste e coloca o cartucho no tapete rolante dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho. O prazo de validade restante é monitorizado pelo sistema com o software Xpertise de modo a que os testes sejam iniciados antes do final do período de três horas no instrumento.

Para adicionar a amostra ao cartucho:

1. Retire o cartucho e o reagente de eluição da embalagem.
2. Misture suave e manualmente a amostra de hemocultura. Não coloque no agitador de vórtice.
3. Utilizando a pipeta de volume fixo (50 µl) fornecida, transfira o conteúdo da pipeta de volume fixo que contém a amostra de hemocultura positiva para o frasco do reagente de eluição seguindo os passos abaixo:
 - a) Aperte firmemente o bolbo no topo da pipeta.
 - b) Mantendo-o apertado, coloque a ponta da pipeta na amostra.
 - c) Com a pipeta ainda na amostra, liberte a pressão no bolbo para encher a pipeta.
 - d) Coloque a ponta da pipeta sobre a abertura do frasco de reagente de eluição.
 - e) Aperte firmemente o bolbo no topo da pipeta para esvaziar o conteúdo da pipeta para dentro do frasco de reagente de eluição. É normal que o líquido excedente permaneça no bolbo de extravasamento.
4. Feche a tampa do reagente de eluição e coloque no agitador de vórtice a velocidade alta durante 10 segundos.
5. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência (não fornecida), transfira todo o conteúdo do frasco de reagente de eluição para a câmara de amostra do cartucho do Xpert MRSA/SA Blood Culture. Ver Figura 1.
6. Feche a tampa do cartucho e inicie o teste.



Figura 1. Cartucho do Xpert MRSA/SA Blood Culture (vista de cima)

10.2 Iniciar o teste

Importante

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio Xpert MRSA/SA Blood Culture foi importado para o software. Se o ficheiro de definição do ensaio Xpert MRSA/SA Blood Culture não estiver presente, siga as instruções para importar as definições do ensaio no manual do utilizador do sistema do instrumento GeneXpert apropriado.

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*.

1. Ligue o sistema do instrumento GeneXpert:
 - Se estiver a utilizar o 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 software GeneXpert no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - Se estiver a utilizar o GeneXpert Infinity, ligue o instrumento. O software GeneXpert iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows.
2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do sistema GeneXpert, clique em **Criar teste (Create test)** (GeneXpert Dx) ou clique em **Pedidos (Orders)** e em **Pedir teste (Order Test)** (Infinity).
4. Leia ou introduza a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta. A ID do paciente (Patient ID) é associada ao resultado do teste e é mostrada na janela Ver resultados (View Results).
5. Na caixa ID da amostra (Sample ID), leia ou digite a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta. A ID da amostra (Sample ID) é associada ao resultado do teste e é mostrada 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 do Xpert MRSA/SA Blood Culture. Aparece a janela Criar teste (Create Test). Utilizando as informações do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota

Se o código de barras no cartucho do Xpert MRSA/SA Blood Culture não for reconhecido pelo sistema, então repita o teste com um novo cartucho seguindo o procedimento de repetição do teste na Secção 12.2.

7. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe, se lhe for solicitada.
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 eliminado no recipiente para resíduos.
- ou
- No caso do instrumento GeneXpert Dx:
 - a. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
 - b. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
 - c. Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir 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.

10.3 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão de resultados. Para obter instruções detalhadas adicionais sobre a visualização e a impressão dos resultados, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*.

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

11 Controlo de Qualidade

11.1 Controlos de Qualidade Integrados

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (SPC) e um controlo de verificação da sonda (PCC).

- **Controlo de processamento da amostra (SPC)** — O SPC destina-se a indicar se a amostra foi processada dentro das condições operacionais especificadas. O SPC contém esporos de *Bacillus globigii*, sob a forma de uma esfera seca de esporos que está incluída em cada cartucho para verificar o processamento adequado da amostra do Xpert MRSA/SA Blood Culture. O SPC verifica se ocorreu lise do SA, se os microrganismos estão presentes e se o processamento da amostra é adequado. Além disso, este controlo deteta inibição associada à amostra das reações de PCR em tempo real e atua como controlo positivo interno. O sinal do SPC deve ser positivo numa amostra negativa e pode ser negativo ou positivo numa amostra positiva. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados. O teste será **Inválido (Invalid)** se o SPC não for detetado numa amostra negativa.
- **Controlo de verificação da sonda (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. A verificação da sonda é aprovada se os dados corresponderem aos critérios de aceitação atribuídos.

11.2 Controlos externos

Devem ser utilizados controlos externos de acordo com as exigências de organizações de acreditação locais, estaduais e federais, conforme aplicável.

Podem ser utilizados KWIK-STIK (Microbiologics, n.º de catálogo 0158 MRSA [SCC*mec* tipo II] e n.º de catálogo 0360 MSSA como controlos positivos e n.º 0371 MSSE como controlo negativo) para formação e CQ externo do sistema do instrumento GeneXpert. Siga o procedimento de controlo externo da Microbiologics descrito a seguir:

1. Rasgue a bolsa pelo entalhe e retire o KWIK-STIK.
2. Para libertar o fluido hidratante, aperte o fundo da ampola no topo da tampa do KWIK-STIK até ouvir a ampola a quebrar.
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 misture no fluido utilizando um movimento de aperto. Tateie os lados do KWIK-STIK para confirmar que a microesfera já não é palpável.
5. Desmonte o KWIK-STIK para libertar a zaragatoa e quebre a zaragatoa no interior do tubo que contém o reagente de eluição (enrosque a tampa).
6. Feche a tampa do reagente de eluição e coloque no agitador de vórtice a velocidade alta durante 10 segundos.
7. Prossiga com os passos de teste subsequentes, começando no passo 5 da Secção 10.1, Preparação do Cartucho.
8. Se o desempenho do CQ externo não for o esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a Cepheid para obter assistência.

12 Interpretação dos Resultados

O sistema do instrumento GeneXpert produz os resultados a partir dos sinais fluorescentes medidos e de algoritmos de cálculo utilizados pelo software do sistema do instrumento GeneXpert. Os resultados podem ser vistos na janela **Ver resultados (View Results)**. Consulte Tabela 1 e Figura 2, Figura 3, Figura 4 e Figura 5.

No caso da presença de MRSA num frasco de hemocultura na ausência de outras espécies bacterianas, o ensaio utiliza algoritmos baseados em regras em que os valores de limiar de ciclo (Cycle threshold, Ct) dos três alvos (*spa*, *mecA* e *SCC*mec**) são comparados para designar se os alvos derivam do mesmo microrganismo de MRSA.

Tabela 1. Resultados e interpretações do Xpert MRSA/SA Blood Culture

Resultado	Interpretação
MRSA POSITIVO/ SA POSITIVO (MRSA POSITIVE/ SA POSITIVE) (Figura 2)	<ul style="list-style-type: none"> MRSA POSITIVO/SA POSITIVO (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE) — se ocorrer qualquer uma das seguintes condições: <ul style="list-style-type: none"> todos os alvos de MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>) estão presentes, ou <i>SCCmec</i> não se encontra presente, as condições do algoritmo baseado em regras são cumpridas para os valores de Ct de <i>mecA</i> e <i>spa</i>, ou <i>spa</i> não se encontra presente, as condições do algoritmo baseado em regras são cumpridas para os valores de Ct de <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>. SPC — NA (não aplicável); o sinal de SPC não faz parte da interpretação dos resultados neste caso, porque a amplificação de MRSA poderá competir com este controlo. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MRSA NEGATIVO/ SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE/ SA POSITIVE) (Figura 3)	<ul style="list-style-type: none"> MRSA NEGATIVO/SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) — se ocorrer qualquer uma das seguintes condições: <ul style="list-style-type: none"> <i>spa</i> encontra-se presente e <i>mecA</i> não se encontra presente, ou <i>spa</i> não se encontra presente, as condições do algoritmo baseado em regras não são cumpridas para os valores de Ct de <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>, ou <i>SCCmec</i> não se encontra presente, as condições do algoritmo baseado em regras não são cumpridas para os valores de Ct de <i>mecA</i> e <i>spa</i>. SPC — NA (NA) (não aplicável); o sinal de SPC não faz parte da interpretação dos resultados neste caso, porque a amplificação de SA poderá competir com este controlo. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MRSA NEGATIVO/ SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE/ SA NEGATIVE) (Figura 4)	<ul style="list-style-type: none"> MRSA NEGATIVO/SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) — O alvo de SA (<i>spa</i>) não se encontra presente e se ocorrer qualquer uma das seguintes condições: <ul style="list-style-type: none"> <i>mecA</i> não se encontra presente, ou <i>SCCmec</i> não se encontra presente, ou <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i> encontram-se presentes, as condições do algoritmo baseado em regras não são cumpridas para os valores de Ct de <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>. SPC — APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. Ou, se qualquer analito-alvo for positivo, o SPC é ignorado. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
INVALID (INVÁLIDO) (Figura 5)	<p>A presença ou ausência de sequências-alvo de MRSA/SA não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção abaixo. O SPC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.</p> <ul style="list-style-type: none"> INVÁLIDO (INVALID) — não é possível determinar a presença ou ausência de ADN do SA. SPC — FALHOU (FAIL); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) fora do intervalo válido e um endpoint (ponto final) inferior à definição mínima. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Resultado	Interpretação
ERRO (ERROR)	<p>A presença ou ausência de sequências-alvo de MRSA/SA não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção abaixo. A ocorrência de um erro poderá dever-se a um tubo de reação que não foi enchido adequadamente, a um problema de integridade da sonda, a um erro de um componente do sistema ou aos limites de pressão máxima terem sido excedidos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA — SEM RESULTADO (NO RESULT) • SA — SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC — SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda — FALHOU/APROVADO (FAIL/PASS) <p>*Se a verificação da sonda tiver sido aprovada, o erro foi provocado por uma falha de um componente do sistema ou porque o limite de pressão máxima foi excedido.</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>A presença ou ausência de sequências-alvo de MRSA/SA não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção abaixo. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste. Tal pode ocorrer, por exemplo, se o utilizador parou um teste que estava em curso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA — SEM RESULTADO (NO RESULT) • SA — SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC — SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda — NA (NA) (não aplicável)

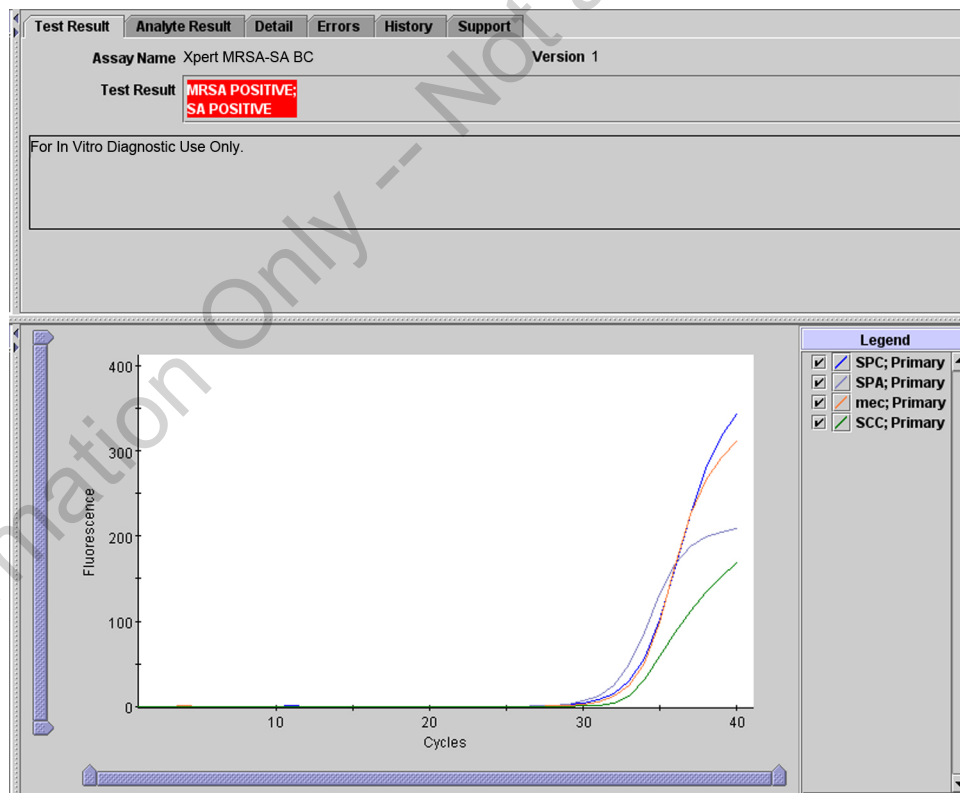


Figura 2. Exemplo de um resultado positivo para MRSA

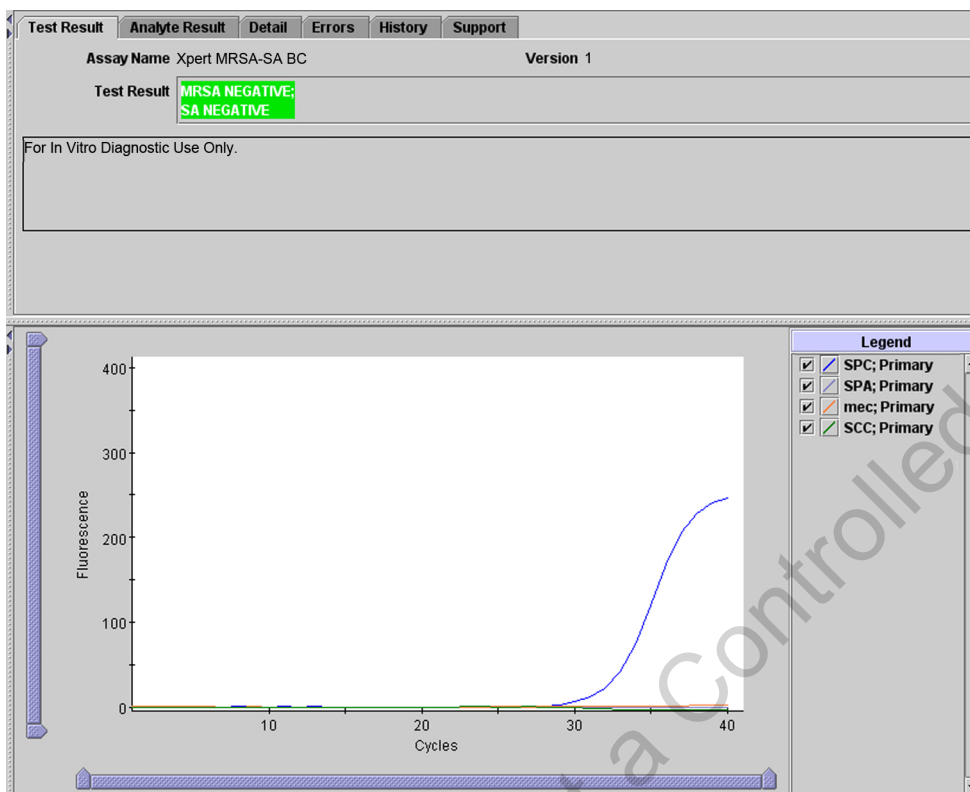


Figura 3. Exemplo de um resultado positivo para SA

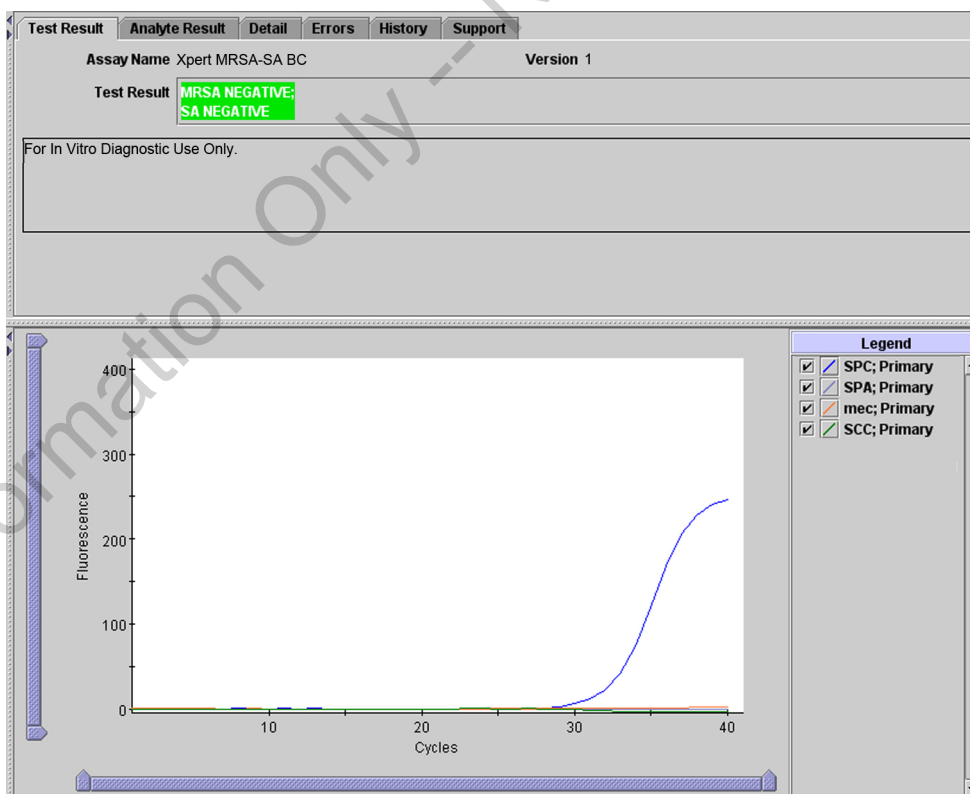


Figura 4. Exemplo de um resultado negativo

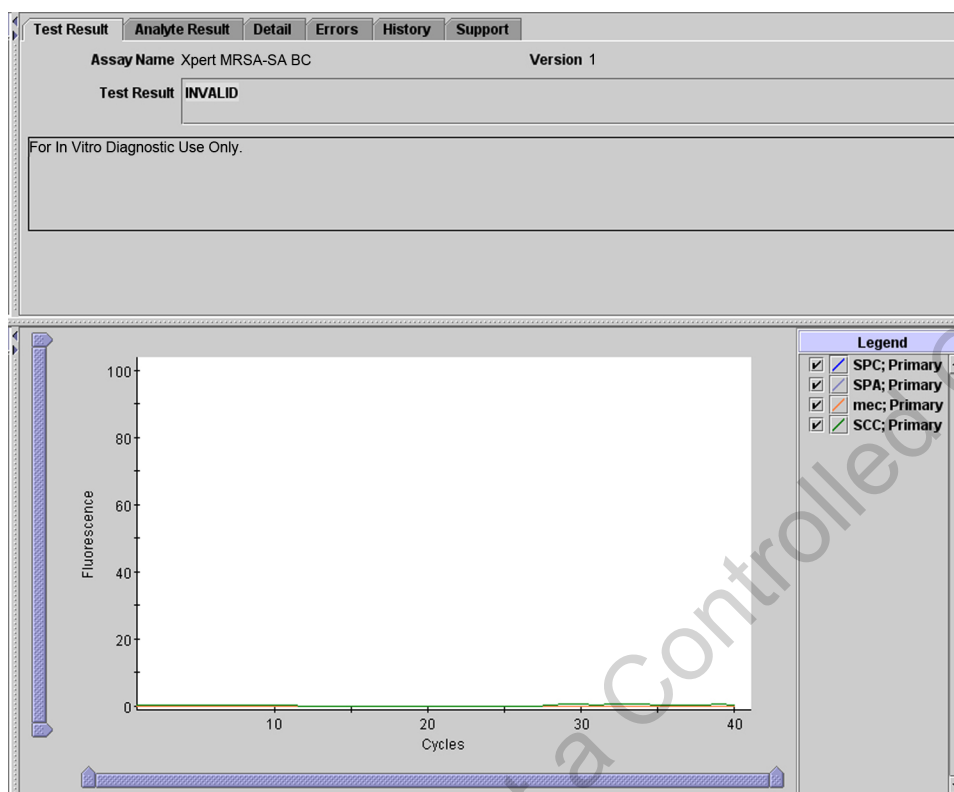


Figura 5. Exemplo de um resultado inválido

12.1 Motivos para repetir o ensaio

A amostra deve ser novamente testada caso algum dos seguintes resultados for obtido com o primeiro teste.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o controlo SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o controlo de verificação da sonda falhou e que o ensaio foi abortado, possivelmente devido ao tubo de reação não ter sido adequadamente enchido, à deteção de um problema de integridade da sonda de reagente ou aos limites de pressão máxima terem sido excedidos.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.
- Se o desempenho do CQ externo não for o esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a Cepheid para assistência.

12.2 Procedimento de repetição do teste

Repita o teste utilizando um novo cartucho (não reutilize o cartucho) e um novo frasco de reagente de eluição. Se utilizar um instrumento GeneXpert Dx, inicie o teste no espaço de 3 horas após a adição da amostra preparada ao cartucho. Se utilizar um sistema GeneXpert Infinity, certifique-se de que inicia o teste e coloca o cartucho no tapete rolanete dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho. O prazo de validade restante é monitorizado pelo sistema com o software Xpertise de modo a que os testes sejam iniciados antes do final do período de três horas no instrumento.

1. Retire o cartucho e o reagente de eluição da embalagem.
2. Misture suave e manualmente a amostra de hemocultura. Não coloque no agitador de vórtice.
3. Utilizando a pipeta de volume fixo (50 µl) fornecida, transfira o conteúdo da pipeta de volume fixo que contém a amostra de hemocultura positiva para o frasco do reagente de eluição seguindo os passos abaixo:
 - a. Aperte firmemente o bolbo no topo da pipeta.
 - b. Mantendo-o apertado, coloque a ponta da pipeta na amostra.
 - c. Com a pipeta ainda na amostra, liberte a pressão no bolbo para encher a pipeta.

- d. Coloque a ponta da pipeta sobre a abertura do frasco de reagente de eluição.
 - e. Aperte firmemente o bolbo no topo da pipeta para esvaziar o conteúdo da pipeta para dentro do frasco de reagente de eluição. É normal que o líquido excedente permaneça no bolbo de extravasamento.
4. Feche a tampa do reagente de eluição e coloque no agitador de vórtice a velocidade alta durante 10 segundos.
 5. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência (não fornecida), transfira todo o conteúdo do frasco de reagente de eluição para a câmara de amostra do cartucho do Xpert MRSA/SA Blood Culture. Ver Figura 1.
 6. Feche a tampa do cartucho e inicie o teste.

13 Limitações

- O desempenho do teste Xpert MRSA/SA Blood Culture foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste. Os resultados do teste Xpert MRSA/SA Blood Culture deverão ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- Não foi estabelecido o desempenho do teste Xpert MRSA/SA Blood Culture utilizando frascos de cultura de sangue de tipos diferentes dos frascos de cultura de sangue BACTEC Plus Aerobic/F, BacT/ALERT SA (Standard Aerobic) e VersaTREK Redox 1 (aeróbio).
- Os meios de hemocultura que contenham carvão ativado não podem ser utilizados com o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture (por ex., BacT/ALERT FAN aerobic).
- Os testes com o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture deverão ser utilizados como adjuvantes a outros métodos disponíveis.
- As mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador (primer) ou da sonda poderão afetar a detecção de variantes de MRSA novas ou desconhecidas, originando um resultado falso negativo.
- Os 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 microrganismos na amostra é demasiado baixo para ser detetado pelo teste. Para se evitar resultados incorretos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.
- Os resultados do Xpert MRSA/SA Blood Culture podem, por vezes, ser **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, sendo necessária a repetição do teste, o que poderá originar um atraso na obtenção de resultados finais.
- As concentrações-alvo inferiores ao LoD do ensaio poderão ser detetadas, mas os resultados podem não ser reprodutíveis.
- O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture poderá gerar um resultado falso negativo para MRSA, ao testar SA com resistência limite à oxacilina (Borderline Oxacillin Resistant SA, BORSA). O mecanismo de resistência à oxacilina em estirpes BORSA poderá dever-se a outros fatores (por ex., maior produção de β -lactamase) que não sejam a presença do gene *mecA*. Considera-se que BORSA com concentrações inibitórias mínimas (CIM) de oxacilina de 4 $\mu\text{g/ml}$ a 8 $\mu\text{g/ml}$ tem resistência limite, mas poderá ser indicado como negativo para MRSA pelo teste Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture pode gerar um resultado falso negativo para MRSA ao testar SA modificado (MOD-SA). O mecanismo de resistência à oxacilina em estirpes MOD-SA deve-se a outros fatores (por ex., alterações na afinidade das proteínas de ligação à penicilina para a oxacilina) que não são a presença do gene *mecA*. Considera-se que MOD-SA com CIM de oxacilina de 4 $\mu\text{g/ml}$ a 8 $\mu\text{g/ml}$ tem resistência limite, mas seria indicado como negativo para MRSA pelo teste Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture gerará um resultado falso negativo para MRSA ao testar uma estirpe contendo um homólogo de *mecA* conhecido como *mecC*, tal como SA LGA251.
- O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture poderá gerar um resultado falso positivo para MRSA ao testar uma amostra contendo tanto staphylococcus resistente à meticilina coagulase-negativo (Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococcus, MRCNS) como *staphylococcus aureus*, suscetível à meticilina.
- Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de microrganismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de MRSA ou SA.

14 Valores esperados

Foram testadas, no estudo clínico do Xpert MRSA/SA Blood Culture, um total 792 amostras de hemocultura de oito locais dos EUA. O número e a percentagem de amostras positivas, conforme determinação pelo método de cultura de referência, foram calculados por grupo etário e são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. 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
0 a 20 anos	22	2	9,1%	7	31,8%
21–30 anos	43	8	18,6%	10	23,3%
31–40 anos	65	8	16,9%	25	38,5%
41–50 anos	124	22	17,7%	45	36,3%
51–60 anos	154	23	14,9%	48	31,8%
61–70 anos	165	15	19,1%	46	27,9%
>70 anos	219	24	11,0%	54	24,7%
Total	792	105	13,3%	236	29,8%

15 Características do Desempenho

O Ficheiro de Definição do Ensaio atualizado com os algoritmos baseados em regras e o lançamento do novo software GeneXpert para dar suporte a esta atualização foram validados através da repetição das análises dos dados de desempenho clínico originais e de um subconjunto dos dados de desempenho analítico originais, incluindo o LoD, a inclusividade, a exclusividade, as substâncias potencialmente interferentes, a reprodutibilidade e a precisão. As repetições das análises demonstraram que os dispositivos são substancialmente equivalentes.

15.1 Desempenho Clínico

As características do desempenho do teste Xpert MRSA/SA Blood Culture foram determinadas num estudo prospetivo multicêntrico em oito instituições dos EUA, comparando o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture com cultura.

Os sujeitos incluíram indivíduos cujos cuidados habituais exigiam testes de cultura de sangue. Se a amostra de hemocultura fosse positiva para crescimento microbiano e a coloração de Gram mostrasse cocos Gram-positivo (individuais ou em aglomerados), a amostra era elegível para inclusão no estudo clínico e eram obtidas alíquotas do material de cultura restante para realização de testes com o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture. Os procedimentos de cultura e coloração de Gram e o tratamento dos pacientes continuaram a decorrer nos locais de acordo com a prática padrão.

Foram realizados testes de suscetibilidade, de acordo com os documentos M2-A11 e M100-S22 do CLSI.^{12, 13} os resultados da difusão em disco de cefoxitina foram utilizados como alternativa para detetar resistência à metilina/oxacilina.

O desempenho do teste Xpert MRSA/SA Blood Culture foi calculado como concordância percentual com os resultados da cultura de referência.

15.2 Resultados globais

Testaram-se no total 792 amostras para MRSA e SA pelo Xpert MRSA/SA Blood Culture e cultura.

Quando comparado com o método de cultura de referência, o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture identificou 98,1% das amostras positivas para MRSA e 99,6% das amostras negativas para MRSA.

Quando comparado com o método de cultura de referência, o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture identificou 99,6% das amostras positivas para SA e 99,5% das amostras negativas para SA.

O desempenho do teste Xpert MRSA/SA Blood Culture é apresentado resumidamente na Tabela 3.

Tabela 3. Desempenho do Xpert MRSA/SA BC vs. Cultura de Referência

		Cultura			
		MRSA+:	SA+/MRSA-	Negat./Sem crescimento	Total
Xpert	MRSA+:	103	2	1	106
	SA+/MRSA-	2	128	2	132
	SA-	0	1	553	554
	Total	105	131	556	792
Desempenho do Xpert	<u>MRSA:</u> CPP: 98,1% (103/105, IC de 95%: 93,3-99,8) CPN: 99,6% (684/687, IC de 95%: 98,7-99,9)				
	<u>SA:</u> CPP: 99,6% (235/236, IC de 95%: 97,7-99,9) CPN: 99,5% (553/556, IC de 95%: 98,4-99,9)				
CPP = Concordância Percentual Positiva, CPN = Concordância Percentual Negativa, IC = Intervalo de Confiança					

De entre as execuções do Xpert MRSA/SA Blood Culture realizadas em amostras elegíveis, 96,1% (764/795) destas foram bem-sucedidas na primeira tentativa. As restantes 31 apresentaram resultados indeterminados na primeira tentativa (1: **INVÁLIDO [INVALID]**, 22: **ERRO [ERROR]** e 8 **SEM RESULTADO [NO RESULT]**). Repetiu-se o teste para trinta dos 31 casos indeterminados; uma das amostras não foi submetida para a repetição do teste. Vinte e oito dos 30 casos indeterminados submetidos à repetição do teste apresentaram resultados válidos após a repetição do ensaio. A taxa global de sucesso do ensaio foi de 99,6% (792/795).

15.3 Desempenho Analítico

Limite de deteção

Foram realizados estudos para determinar as estimativas pontuais e os intervalos de confiança de 95% bilaterais para o limite de deteção (LoD) analítico de células de SA e de células de SA resistentes à meticilina (MRSA) diluídas numa matriz de hemocultura negativa simulada detetável pelo teste Xpert MRSA/SA Blood Culture. A matriz consistiu em sangue total sem SA e células de SE suscetível à meticilina (Methicillin-Susceptible *Staphylococcus epidermidis*, MSSE) a 10^6 UFC/ml adicionados a um meio de hemocultura. O limite de deteção 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 MRSA, avaliaram-se 20 réplicas a cada concentração de MRSA testada (UFC/teste) para 10 isolados individuais representando os tipos de SCCmec I, II, III, IVa, V, VI, VII e VIII. Na caracterização por eletroforese de gel em campo pulsado (Pulsed-Field Gel Electrophoresis, PFGE), estiveram representadas a USA100, a estirpe mais frequentemente adquirida em estabelecimentos de saúde, e a USA400, uma das estirpes mais frequentemente adquiridas em comunidades.

Para o SA, avaliaram-se 20 réplicas a cada concentração de SA (UFC/teste) para 3 isolados de SA individuais. Os tipos USA900 e USA1200 estiveram representados.

As estimativas pontuais e os intervalos de confiança foram determinados através de regressão Probit utilizando dados (isto é, o número de resultados positivos por número de réplicas em cada nível) abrangendo um intervalo de ponderações de UFC/teste. Os intervalos de confiança foram determinados utilizando estimativas de probabilidade máxima nos parâmetros do modelo Probit, 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 testados são apresentados resumidamente nas Tabela 4 e Tabela 5.

Tabela 4. LoD e Intervalos de Confiança de 95% — SA

ID da estirpe de SA	ID da PFGE	LoD confirmado (UFC/ teste) [pelo menos 19/20 positivos]	Estimativa do LoD (Análise de Regressão Probit) (UFC/teste)		
			IC de 95% inferior	Estimativa do LoD	IC de 95% superior
102-04 ^a	USA1200	100 (19/20)	60,4	74,5	101,6
29213 ^b	Desconhecida	150 (19/20)	120,1	138,2	172,7
N7129 ^a	USA900	300 (19/20)	224,2	255,2	314,8
Origem da estirpe:					

^a American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, EUA

^b Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, GA, EUA

Tabela 5. LoD e intervalos de confiança de 95% — MRSA

ID da estirpe de MRSA	ID da PFGE	LoD confirmado (UFC/ teste) [pelo menos 19/20 positivos]	Estimativa do LoD (Análise de Regressão Probit) (UFC/teste)		
			IC de 95% inferior	Estimativa do LoD	IC de 95% superior
Tipo I (64/4176) ^a	USA500	350 (19/20)	332,3	366,8	433,5
Tipo II (N315) ^b	USA100 ^c	175 (19/20)	113,7	137,0	178,1
Tipo III (11373) ^b	Desconhecida	225 (19/20)	191,9	222,6	273,9
Tipo IVa (MW2) ^b	USA400 ^e	350 (19/20)	313,1	356,1	427,0
Tipo V (ST59) ^d	USA1000 ^e	250 (19/20)	218,2	243,1	282,3
Tipo VI (HDE288) ^{e f}	USA800 ^e	250 (19/20)	222,2	246,0	385,0
Tipo VII (JCSC6082) ^a	Desconhecida	300 (19/20)	264,1	288,0	347,1
Tipo VIII (WA MRSA-16) ^c	Desconhecida	400 (19/20)	348,7	386,7	499,1
Tipo II (BK2464) ^b	USA100 ^g	125 (19/20)	94,3	116,1	162,0
Tipo IVd (BK2529) ^{b,f}	USA500 ^g	200 (19/20)	120,8	148,8	202,5
Origem da estirpe:					

^a Teruyo Ito, Departamento de Bacteriologia, Faculdade de Medicina da Universidade Juntendo, Tóquio, Japão

- b Barry Kreiswirth, Diretor do Public Health Research Institute (PHRI), Newark, NJ, EUA
- c K. Bonnstetter et al., J Clin Micro 2007, p. 141-146; L. McDougal et al., J Clin Micro 2003, p. 5113-5120
- d Geoffrey Coombs, Departamento de Microbiologia e Doenças Infeciosas, Hospital Royal Perth, Perth, WA, Austrália
- e Herminia de Lencastre, Laboratório de Genética Molecular, Instituto de Tecnologia Química e Biológica (ITQB), Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portugal
- f Isolados heterogêneos resistentes à oxacilina
- g Barry Kreiswirth, comunicação pessoal

Os resultados deste estudo indicam que o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture produz um resultado positivo para SA 95% das vezes para uma alíquota de hemocultura positiva (50 µl) contendo 300 UFC e um resultado positivo para MRSA 95% das vezes para uma alíquota de hemocultura positiva (50 µl) contendo 400 UFC.

15.3.1 Estudo de inclusividade analítica (reatividade)

Testaram-se duzentas e cinquenta (250) estirpes de SA (47 MSSA e 203 MRSA) de várias origens utilizando o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture. As seleções representam as linhagens primárias, com ênfase nos complexos clonais específicos dentro dos quais se observa predominantemente o MRSA. Foram incluídas linhagens que contêm MRSA e MSSA, bem como aquelas que contêm exclusivamente MSSA. Na caracterização por eletroforese de gel em campo pulsado (PFGE), também se incluíram numerosos tipos USA, incluindo USA100, a estirpe mais comumente adquirida em estabelecimentos de saúde, e USA300 e USA400, as estirpes mais comumente adquiridas em comunidades.¹⁴ Também se testaram estirpes representando variantes de “cassete vazia” e estirpes heterogêneas identificadas como SA com resistência limite à oxacilina (por ex., valores de CIM de oxacilina de 4–8 µg/ml), ou BORSA.

Todas as estirpes foram testadas em triplicado utilizando 10 µl de suspensão de células em fase estacionária diluída 1 milhão de vezes. As unidades formadoras de colônias por ensaio (UFC/teste) foram determinadas por contagem de placas em triplicado. Todos os resultados foram corretamente indicados pelo teste Xpert MRSA/SA Blood Culture, exceto para uma amostra. O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture identificou incorretamente uma (1) estirpe de SA (LGA251) como MSSA em vez de MRSA. A LGA251 contém um novo gene *mecA* que representa um homólogo de *mecA* divergente *mecC* (isto é, *mecALGA251*), situado num novo elemento cromossômico estafilocócico *mec*, o qual se designa SCC*mec* tipo XI. Os primers e sondas de *mecA* no teste MRSA/SA Blood Culture não detetaram o gene *mecC* nesta estirpe, devido a mutações nas regiões de ligação de primers/sondas. O gene *mecC* apresenta diferenças substancialmente significativas na homologia, quando comparado com o gene *mecA* em outras estirpes de MRSA não variantes.

15.3.2 Especificidade Analítica (exclusividade)

Foram colhidas, quantificadas e testadas cento e um(a) (101) microrganismos/estirpes utilizando o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture. Das 101 estirpes testadas, 91 culturas foram obtidas da American Type Culture Collection (ATCC); 1 foi obtida da Culture Collection, Universidade de Gotemburgo (CCUG), Suécia; 1 foi obtida de Teruyo Ito, Universidade Juntendo, Tóquio, Japão; 1 estirpe de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC) foi obtida da National Collection of Type Cultures (NCTC), Reino Unido; e 7 estirpes foram obtidas da Network on Antimicrobial Resistance in SA (NARSA). Estas estirpes representam espécies filogeneticamente relacionadas com SA ou as que se poderão encontrar no contexto hospitalar.

Os microrganismos testados foram identificados como Gram-positivo (74), Gram-negativo (24) ou leveduras (3). Incluíram-se *Staphylococcus* sensível à metilina coagulase-negativo, MSCoNS (27), e *Staphylococcus* resistente à metilina coagulase-negativo, MRCoNS (12). Os microrganismos foram ainda classificados como aeróbios (94) ou anaeróbios (7).

Três réplicas de cada isolado foram testadas entre 1,7 e 3,2 unidades McFarland. Nas condições deste estudo, todos os isolados foram indicados como **MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)** — nenhum dos isolados foi detetado pelo teste Xpert MRSA/SA Blood Culture. A especificidade analítica foi de 100%.

15.3.3 Estudo de Substâncias Interferentes

Foram testadas no estudo de substâncias interferentes as substâncias que podem estar presentes em hemoculturas e potencialmente interferir com o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture. As substâncias potencialmente interferentes avaliadas incluem, entre outras, sangue total anticoagulado com ACD, EDTA, Heparina e Citrato de Sódio, Plasma Humano, três frascos de meio de hemocultura (Becton Dickinson BACTEC Plus Aerobic/F, BioMérieux BacT/ALERT SA [Standard Aerobic] e TREK Diagnostics VersaTREK REDOX1 [Aerobic]), bilirrubina, γ-globulina, hemoglobina, triglicéridos e polianetolsulfonato de sódio (SPS). A bilirrubina, γ-globulina, hemoglobina e os triglicéridos foram testados a concentrações aproximadamente um log superior aos níveis de referência. O SPS foi testado a uma concentração 10 vezes superior à encontrada em meios de hemocultura. Foram testadas amostras negativas (n=8) em cada substância para determinar o efeito no desempenho do controle de processamento da amostra (sample processing control, SPC). Foram testadas amostras positivas (n = 8) por substância com dois isolados clínicos cada de MSSA (29213 e 102–04) e MRSA (tipos de SCC*mec* II

e III) adicionados perto do LoD analítico determinado para cada isolado. Todos os resultados foram comparados a controles de tampão positivos e negativos. Todas as amostras negativas foram corretamente indicadas como **MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)** utilizando o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture. Nenhuma das substâncias potencialmente interferentes teve um efeito inibitório estatisticamente significativo no desempenho do SPC em amostras negativas (valor-p = >0,05). Todas as amostras positivas para MSSA foram corretamente indicadas como **MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** utilizando o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture. Todas as amostras positivas para MRSA foram corretamente indicadas como **MRSA POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)** utilizando o teste Xpert MRSA/SA Blood Culture. Nenhuma das substâncias potencialmente interferentes resultou numa diferença de Ct ≥ 1 ciclo relativamente aos controlos de tampão, não tendo sido indicados quaisquer resultados falsos negativos.

15.3.4 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. Este estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert imediatamente após uma amostra positiva muito elevada (6×10^7 células de MSSA ou MRSA) processada nesse mesmo módulo do sistema GeneXpert Dx. Tal foi repetido 40 vezes entre 2 módulos GeneXpert. Testaram-se 84 execuções por estirpe (40 amostras positivas por sistema e por estirpe e 44 amostras negativas por sistema e por estirpe). Não se encontraram quaisquer indícios de contaminação por transferência. Todas as 40 amostras positivas para MRSA foram corretamente indicadas como **MRSA POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)**. Todas as 40 amostras positivas para MSSA foram corretamente indicadas como **MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)**. Todas as 88 amostras negativas foram corretamente indicadas como **MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)**.

15.3.5 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do teste Xpert MRSA/SA Blood Culture foi avaliada em três locais utilizando amostras compostas por material de cultura adicionado a uma matriz simulada. As amostras foram preparadas com níveis de concentração representando negativo elevado (inferior ao LoD), positivo baixo ($\sim 1 \times \text{LoD}$) e positivo moderado ($\sim 2-3 \times \text{LoD}$) tanto para MRSA como para MSSA. Utilizaram-se duas estirpes de MRSA diferentes. Também se incluíram no painel membros negativos, consistindo em *Staphylococcus epidermidis* adicionado a uma matriz simulada. Foi testado um painel de 11 amostras em cinco dias diferentes por dois utilizadores diferentes três vezes por dia em três locais (11 amostras x 2 utilizadores x 5 dias x 3 réplicas por dia x 3 locais). Incluiu-se um lote de reagentes do Xpert MRSA/SA Blood Culture no estudo.

Os testes Xpert MRSA/SA Blood Culture foram realizados de acordo com o procedimento do Xpert MRSA/SA Blood Culture. A taxa de concordância para cada membro do painel é apresentada na Tabela 6.

**Tabela 6. Resumo dos resultados de reprodutibilidade
— concordância por local/instrumento do estudo**

Amostra	Local 1/GX Dx	Local 2/ Inf-80	Local 3/ Inf-48	% concordância total
MRSA-1 negat. elevado (inferior ao LoD)	56,7% (17/30)	60,0% (18/30)	66,7% (20/30)	61,1% (55/90)
MRSA-1 posit. baixo (~ 1 X LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA-1 posit. mod. (~ 2–3 X LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (29/29)	100,0% (89/89) ^a
MRSA-2 negat. elevado (inferior ao LoD)	43,3% (13/30)	53,3% (16/30)	70,0% (21/30)	55,6% (50/90)
MRSA-2 posit. baixo (~ 1 X LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA-2 posit. mod. (~ 2–3 X LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MSSA negat. elevado (inferior ao LoD)	60,0% (18/30)	48,3% (14/29)	70,0% (21/30)	59,6% (53/89) ^b
MSSA posit. baixo (~ 1 X LoD)	96,7% (29/30)	100,0% (30/30)	96,7% (29/30)	97,8% (88/90)
MSSA posit. mod. (~ 2–3 X LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativo-1	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativo-2	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)

^a Uma amostra foi indicada como indeterminada após o teste inicial e repetição do teste.

^b Uma amostra não foi executada por lapso.

A reprodutibilidade do teste Xpert MRSA/SA Blood Culture também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de limiar de ciclo (Ct) para cada alvo detetado. A média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) entre locais, entre lotes, entre dias e entre execuções para cada membro do painel são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Resumo dos Dados de Reprodutibilidade

Alvo	Amostra	Conc.	Concordância / N	Concord (%)	Ct médio	Entre instrumentos		Entre dias		Entre execuções ^a		Intraexecução		Total	
						DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
spa	MRSA-1	negat. elevado	55/90	61,1	35,6	0,18	0,5	0,21	0,6	0,00	0,0	0,95	2,7	0,99	2,8
	MRSA-1	posit. baixo	90/90	100,0	32,8	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,62	1,9	0,67	2,1
	MRSA-1	posit. mod.	89/89	100,0	31,2	0,11	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,58	1,9	0,59	1,9
	MRSA-2	negat. elevado	50/90	55,6	35,3	0,15	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,99	2,8	1,00	2,8
	MRSA-2	posit. baixo	90/90	100,0	32,3	0,11	0,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,63	1,9	0,65	2,0
	MRSA-2	posit. mod.	90/90	100,0	30,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,8	0,55	1,8
	MSSA	negat. elevado	53/89	59,6	36,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,26	3,5	1,26	3,5
	MSSA	posit. baixo	88/90	97,8	33,5	0,07	0,2	0,18	0,5	0,00	0,0	0,89	2,7	0,91	2,7
	MSSA	posit. mod.	90/90	100,0	31,7	0,08	0,2	0,20	0,6	0,17	0,6	0,48	1,5	0,56	1,8
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
mec	MRSA-1	negat. elevado	55/90	61,1	35,8	0,00	0,0	0,36	1,0	0,00	0,0	0,83	2,3	0,91	2,5
	MRSA-1	posit. baixo	90/90	100,0	33,4	0,12	0,4	0,19	0,6	0,00	0,0	0,55	1,6	0,59	1,8
	MRSA-1	posit. mod.	89/89	100,0	31,9	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,46	1,4	0,47	1,5
	MRSA-2	negat. elevado	50/90	55,6	35,8	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	1,03	2,9	1,08	3,0
	MRSA-2	posit. baixo	90/90	100,0	32,8	0,11	0,3	0,00	0,0	0,16	0,5	0,51	1,6	0,54	1,7
	MRSA-2	posit. mod.	90/90	100,0	31,5	0,00	0,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,49	1,5	0,51	1,6
	MSSA	negat. elevado	53/89	59,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	posit. baixo	88/90	97,8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	posit. mod.	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SCC	MRSA-1	negat. elevado	55/90	61,1	37,2	0,20	0,5	0,37	1,0	0,35	1,0	0,82	2,2	0,98	2,6
	MRSA-1	posit. baixo	90/90	100,0	34,5	0,19	0,5	0,23	0,7	0,00	0,0	0,59	1,7	0,66	1,9
	MRSA-1	posit. mod.	89/89	100,0	33,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,45	1,4	0,48	1,5
	MRSA-2	negat. elevado	50/90	55,6	36,8	0,23	0,6	0,24	0,6	0,10	0,3	1,00	2,7	1,06	2,9

Alvo	Amostra	Conc.	Concordância / N	Concord (%)	Ct médio	Entre instrumentos		Entre dias		Entre execuções ^a		Intraexecução		Total		
						DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	
	MRSA-2	posit. baixo	90/90	100,0	33,7	0,11	0,3	0,00	0,0	0,26	0,8	0,57	1,7	0,64	1,9	
	MRSA-2	posit. mod.	90/90	100,0	32,4	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,45	1,4	0,46	1,4	
	MSSA	negat. elevado	53/89	59,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
	MSSA	posit. baixo	88/90	97,8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
	MSSA	posit. mod.	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
SPC	MRSA-1	negat. elevado	55/90	61,1	32,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,20	0,6	0,65	2,0	0,68	2,1	
	MRSA-1	posit. baixo	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,16	0,5	0,10	0,3	0,61	1,8	0,63	1,9	
	MRSA-1	posit. mod.	89/89	100,0	33,0	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,83	2,5	0,87	2,6	
	MRSA-2	negat. elevado	50/90	55,6	33,1	0,23	0,7	0,00	0,0	0,10	0,3	0,85	2,6	0,89	2,7	
	MRSA-2	posit. baixo	90/90	100,0	32,9	0,15	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,4	0,79	2,4	
	MRSA-2	posit. mod.	90/90	100,0	32,8	0,00	0,0	0,23	0,7	0,00	0,0	0,66	2,0	0,70	2,1	
	MSSA	negat. elevado	53/89	59,6	32,8	0,18	0,5	0,15	0,5	0,00	0,0	0,74	2,2	0,77	2,4	
	MSSA	posit. baixo	88/90	97,8	32,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,72	2,2	0,72	2,2	
	MSSA	posit. mod.	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,31	0,9	0,00	0,0	0,69	2,1	0,76	2,3	
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Concord. = Concordância, Conc. = Concentração, CV = Coeficiente de Variação, NA = Não Aplicável para amostras negativas, DP = Desvio Padrão.

Nota A estimativa de variância de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que poderá ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito reduzida. Quando tal ocorre, a variabilidade, consoante medida com DP e CV, é definida como 0.

^a Uma execução é definida como as três amostras por membro do painel executadas por um utilizador, num local e num dia.

15.3.6 Estudo de Precisão dos Sistemas do Instrumento

Foi realizado um estudo de precisão interno para comparar o desempenho dos sistemas do instrumento GeneXpert Dx, Infinity-48 e Infinity-80, utilizando amostras compostas por material de cultura adicionado a uma matriz simulada. As amostras foram preparadas com níveis de concentração representando negativo elevado (inferior ao LoD), positivo baixo (~ 1 X LoD) e positivo moderado (~ 2-3 X LoD) tanto para MRSA como para MSSA. Utilizaram-se duas estirpes de MRSA diferentes. Também se incluíram no painel membros negativos, consistindo em *Staphylococcus epidermidis* adicionado a uma matriz simulada. Foi testado um painel de 11 amostras em 12 dias diferentes, por dois utilizadores diferentes, quatro vezes por dia por instrumento (11 amostras x 2 utilizadores x 12 dias x 4 réplicas por dia x 3 instrumentos). Incluiu-se um lote de reagentes do Xpert MRSA/SA Blood Culture no estudo. Os testes Xpert MRSA/SA Blood Culture foram realizados de acordo com o procedimento do Xpert MRSA/SA Blood Culture. A taxa de concordância para cada membro do painel é apresentada na Tabela 8.

Tabela 8. Resumo dos resultados de precisão — Concordância por Instrumento

Amostra	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% concordância total
MRSA-1 negat. elevado (inferior ao LoD)	50,0% (48/96)	51,6% (49/95)	35,4% (34/96)	45,6% (131/287) ^a
MRSA-1 posit. baixo (~ 1 X LoD)	96,9% (93/96)	99,0% (95/96)	99,0% (95/96)	98,3% (283/288)
MRSA-1 posit. mod. (~ 2–3 X LoD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	99,0% (95/96)	99,7% (287/288)
MRSA-2 negat. elevado (inferior ao LoD)	80,2% (77/96)	78,1% (75/96)	80,2% (77/96)	79,5% (229/288)
MRSA-2 posit. baixo (~ 1 X LoD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
MRSA-2 posit. mod. (~ 2–3 X LoD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	99,0% (95/96)	99,7% (287/288)
MSSA negat. elevado (inferior ao LoD)	76,0% (73/96)	71,9% (69/96)	81,3% (78/96)	76,4% (220/288)
MSSA posit. baixo (~ 1 X LoD)	96,9% (93/96)	99,0% (95/96)	100,0% (96/96)	98,6% (284/288)
MSSA posit. mod. (~ 2–3 X LoD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
Negativo-1	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
Negativo-2	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)

^a Uma amostra foi indicada como indeterminada após o teste inicial e repetição do teste.

Os resultados do estudo de precisão também foram avaliados em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct (limiar de ciclo) para cada alvo detetado. A média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) entre instrumentos, entre dias e entre execuções para cada elemento do painel são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Resumo dos Dados de Precisão

Alvo	Amostra	Conc.	Concor- dância / N	Concord (%)	Ct médio	Entre instrumentos		Entre dias		Entre execuções ^a		Intraexecução		Total		
						DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	
spa	MRSA-1	negat. elevado	131/287	45,6	34,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,09	3,2	1,09	3,2	
	MRSA-1	posit. baixo	283/288	98,3	32,9	0,02	0,1	0,16	0,5	0,00	0,0	0,78	2,4	0,80	2,4	
	MRSA-1	posit. mod.	287/288	99,7	32,0	0,06	0,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,62	1,9	0,63	2,0	
	MRSA-2	negat. elevado	229/288	79,5	36,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	1,19	3,3	1,35	3,7	
	MRSA-2	posit. baixo	288/288	100,0	32,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,57	1,8	0,62	1,9	
	MRSA-2	posit. mod.	287/288	99,7	31,1	0,12	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,6	0,51	1,7	
	MSSA	negat. elevado	220/288	76,4	36,4	0,21	0,6	0,00	0,0	0,00	0,0	1,36	3,7	1,59	4,4	
	MSSA	posit. baixo	284/288	98,6	33,8	0,09	0,3	0,18	0,5	0,00	0,0	0,87	2,6	0,90	2,7	
	MSSA	posit. mod.	288/288	100,0	32,2	0,08	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,70	2,2	0,74	2,3	
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
mec	MRSA-1	negat. elevado	131/287	45,6	34,5	0,00	0,0	0,11	0,3	0,00	0,0	0,86	2,5	0,87	2,5	
	MRSA-1	posit. baixo	283/288	98,3	33,4	0,07	0,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,61	1,8	0,63	1,9	
	MRSA-1	posit. mod.	287/288	99,7	32,5	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,7	0,56	1,7	
	MRSA-2	negat. elevado	229/288	79,5	35,9	0,00	0,0	0,28	0,8	0,00	0,0	1,02	2,8	1,06	2,9	
	MRSA-2	posit. baixo	288/288	100,0	32,8	0,06	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,5	0,53	1,6	
	MRSA-2	posit. mod.	287/288	99,7	31,5	0,14	0,5	0,05	0,2	0,00	0,0	0,45	1,4	0,47	1,5	
	MSSA	negat. elevado	220/288	76,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
	MSSA	posit. baixo	284/288	98,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
	MSSA	posit. mod.	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
	NEG-2	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
SCC	MRSA-1	negat. elevado	131/287	45,6	36,7	0,18	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,51	4,1	1,52	4,1	
	MRSA-1	posit. baixo	283/288	98,3	34,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	1,11	3,2	1,13	3,2	
	MRSA-1	posit. mod.	287/288	99,7	33,7	0,12	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,3	0,78	2,3	
	MRSA-2	negat. elevado	229/288	79,5	37,3	0,00	0,0	0,32	0,8	0,00	0,0	1,03	2,8	1,17	3,1	

Alvo	Amostra	Conc.	Concordância / N	Concord (%)	Ct médio	Entre instrumentos		Entre dias		Entre execuções ^a		Intraexecução		Total	
						DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
	MRSA-2	posit. baixo	288/288	100,0	34,2	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,44	1,3	0,50	1,5
	MRSA-2	posit. mod.	287/288	99,7	33,0	0,12	0,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,49	1,5	0,50	1,5
	MSSA	negat. elevado	220/288	76,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	posit. baixo	284/288	98,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	posit. mod.	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SPC	MRSA-1	negat. elevado	131/287	45,6	33,4	0,00	0,0	0,17	0,5	0,00	0,0	0,84	2,5	0,86	2,6
	MRSA-1	posit. baixo	283/288	98,3	33,4	0,10	0,3	0,21	0,6	0,00	0,0	0,77	2,3	0,80	2,4
	MRSA-1	posit. mod.	287/288	99,7	33,4	0,08	0,2	0,15	0,5	0,00	0,0	0,72	2,2	0,74	2,2
	MRSA-2	negat. elevado	229/288	79,5	33,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,82	2,4	0,82	2,4
	MRSA-2	posit. baixo	288/288	100,0	33,4	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,73	2,2	0,77	2,3
	MRSA-2	posit. mod.	287/288	99,7	33,3	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,74	2,2	0,75	2,2
	MSSA	negat. elevado	220/288	76,4	33,4	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	0,83	2,5	0,85	2,6
	MSSA	posit. baixo	284/288	98,6	33,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,86	2,6	0,87	2,6
	MSSA	posit. mod.	288/288	100,0	33,1	0,11	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	2,2	0,77	2,3
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	33,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,00	0,0	0,85	2,6	0,87	2,6
	NEG-2	Neg	288/288	100,0	33,5	0,00	0,0	0,02	0,1	0,00	0,0	0,84	2,5	0,84	2,5

Concord. = Concordância, Conc. = Concentração, CV = Coeficiente de Variação, NA = Não Aplicável para amostras negativas, DP = Desvio Padrão.

Nota A estimativa de variância de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que poderá ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito reduzida. Quando tal ocorre, a variabilidade, consoante medida com DP e CV, é definida como 0.

^a Uma execução é definida como quatro amostras por elemento de painel testadas por um profissional, num local e num dia.

16 Referências

1. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollack DA, Fridkin SK. 2008. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections; annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008 Nov;29(11):996-1011. doi: 10.1086/591861. Erratum in: *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009 Jan;30(1):107.
2. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *JAMA*. 282(19):1745-51.
3. Shopsis B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*. 7(2):323-6.
4. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. *Cleveland Clinic J Med*. 72(3):235-241.
5. Das I, O'Connell N, Lambert P. 2007. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. *J Hosp Infect*. 65(2):117-123.
6. Anderson DJ *et al*. 2009. Resultados clínicos e financeiros devido a infeção do local cirúrgico pelo *Staphylococcus aureus* resistente à metilina: Um estudo multicêntrico de resultados correspondentes. *PLoS ONE* 4(12):e8305. doi:10.1371/journal.pone.0008305.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (refer to latest edition). U.S. Department of Health and Human Services.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 do CLSI (consultar a edição mais recente). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
9. Chartier Y, *et al*. Safe management of wastes from health care activities. *Bulletin of the World Health Organization* (consulte a última edição).
10. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 16 de dezembro de 2008, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.
11. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
12. CLSI M2-A11. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Eleventh Edition. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
13. CLSI M100-S22. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-second Informational Supplement, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
14. Cooper, J E. Feil E J. 2006. The phylogeny of *Staphylococcus aureus* – which genes make the best intra-species markers? *Microbiology* 152:1297–1305.

17 Locais das sedes da Cepheid

Sede empresarial

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

18 Assistência técnica

Antes de nos contactar

Antes de contactar a assistência técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

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

Assistência técnica nos Estados Unidos















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

Assistência técnica em França

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

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

19 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não utilizar mais de uma vez
	Código do lote
	Cuidado
	Contém suficiente para <i>n</i> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Atenção
	Fabricante
	Riscos biológicos
	Consultar as instruções de utilização
	Para utilização apenas com receita médica



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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



20 Histórico de revisões

Descrição das Alterações: 301-1061-PT Rev. E a F

Finalidade: Correção em Limitações

Secção	Descrição da alteração
Limitações	O teste Xpert MRSA/SA Blood Culture irá gerar um resultado falso positivo para MRSA ao testar uma amostra contendo tanto staphylococcus resistente à meticilina coagulase-negativo (Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococcus, MRCNS) como staphylococcus aureus, suscetível à meticilina.