

Xpert[®] EV

REF GXEV-100N-10

For Information Only - Not a Controlled Copy

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © 2007-2023 Cepheid. All rights reserved.

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

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

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

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

Copyright © 2007-2023 Cepheid. Todos os direitos reservados.

For Information Only - Not a Controlled Copy

Xpert[®] EV

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.



1 Nome proprietário

Xpert[®] EV

2 Nome comum ou usual

Ensaio Xpert EV

3 Utilização prevista

O ensaio Cepheid[®] Xpert EV é um teste de transcrição reversa/reacção em cadeia da polimerase (RT-PCR), que utiliza o sistema GeneXpert[®] Dx para a deteção qualitativa presumível de ARN de enterovírus (EV) em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) de indivíduos com sinais e sintomas de meningite. Este teste, em conjunto com outros resultados laboratoriais e informações clínicas, pode ser utilizado como auxiliar no diagnóstico laboratorial de infeção por enterovírus em doentes com suspeita clínica de meningite ou meningoencefalite. As características do desempenho do ensaio não foram determinadas para doentes imunocomprometidos ou com imunossupressão.

Cuidado



Os resultados obtidos com o ensaio Xpert EV só devem ser utilizados como auxiliares das observações clínicas e de outras informações disponibilizadas ao médico. Resultados positivos no Xpert EV não excluem outras causas de meningite, incluindo bactérias, micobactérias, outros vírus (p. ex., vírus da família herpes, arbovírus, vírus da papeira, etc.) e fungos.

4 Resumo e explicação

O ensaio Cepheid[®] Xpert EV é um teste de transcrição reversa/reacção em cadeia da polimerase (RT-PCR) que é utilizado para detetar ARN de enterovírus em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR). Os enterovírus são taxonomicamente classificados com vírus que consistem em poliovírus, coxsackievírus e enterovírus.³ Os enterovírus causam uma grande diversidade de infeções e são mais frequentemente transmitidos por contacto direto com secreções respiratórias de uma pessoa infetada.¹ Os sintomas comuns incluem febre, dor de cabeça grave, pescoço rígido, dor nos olhos causada por luzes intensas, sonolência ou confusão, náuseas e vómitos. Em crianças, os sintomas incluem febre, mau humor, irritabilidade, dificuldade em acordar ou perda de apetite.¹ Embora a maioria das infeções seja assintomática ou cause uma ligeira doença febril, leva muitas vezes ao internamento, sobretudo em bebés e crianças. Cerca de 90% dos casos de meningite viral são causados por enterovírus;² estes vírus são a causa mais comum de meningite nos Estados Unidos da América, estimando-se que causem entre 30 000 e 50 000 internamentos por ano.³ A meningite enteroviral desaparece por si só normalmente no prazo de 7 a 10 dias. Contudo, causas não virais de meningite como, por exemplo, meningite bacteriana, podem ser graves e podem resultar em incapacidade ou morte se não tratadas imediatamente, pelo que a meningite deve ser levada a sério.¹

Um teste para deteção de enterovírus, em conjunto com exames médicos e outras informações clínicas, pode ajudar os médicos a identificar doentes com meningite enteroviral e, assim, auxiliar no tratamento dos doentes.⁴

5 Princípio do procedimento

O sistema GeneXpert Dx automatiza e integra a purificação de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a deteção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR e RT-PCR em tempo real. O sistema consiste num instrumento, computador pessoal e software pré-carregado para realizar testes nas amostras colhidas e ver os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos GeneXpert[®] descartáveis, de utilização única, do Xpert que contêm os reagentes de PCR e onde decorre o processo de PCR. Como os cartuchos são autónomos, a contaminação cruzada entre amostras é eliminada. Para uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert[®] Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

O ensaio Xpert EV destina-se a detetar ARN de enterovírus (EV) (região não traduzida [RNT] do genoma 5' do genoma do enterovírus entre os nucleótidos 452 e 596) em amostras de LCR. O ensaio inclui reagentes, iniciadores e sondas para a deteção simultânea de ácidos nucleicos totais de EV-alvo e o controlo de processamento da amostra/controlo interno (SPC/IC). O ensaio inclui o SPC/IC para verificar o processamento adequado do vírus-alvo e monitoriza a presença de inibidores no ensaio de RT-PCR para evitar um resultado falso negativo. (Tenha em atenção que no software do sistema GeneXpert® Dx, CIC é o nome do SPC/IC.) O ensaio também inclui um controlo de verificação da sonda para verificar a reidratação de reagentes, a integridade da sonda e o enchimento do tubo de reação no cartucho.

Para executar um teste, a amostra de LCR e quatro reagentes são transferidos para câmaras designadas do cartucho do Xpert EV. O sistema GeneXpert Dx prepara a amostra realizando a lise do vírus e do SPC (pseudovírus ARN encapsulado), ligando o ARN à matriz de captura, e eluindo o ARN. O ARN é misturado com reagentes de RT secos e transferido para o tubo de reação para preparação do cADN. Em seguida, o cADN é misturado com reagentes de PCR secos e transferido para o tubo de reação para PCR e deteção em tempo real. Os iniciadores e a sonda de EV amplificam e detetam uma região de consenso da região não traduzida (RNT) 5' do enterovírus. O teste demora cerca de 2,5 horas.

6 Reagentes

6.1 Materiais fornecidos



O kit do ensaio Xpert EV (GXEV-100N-10) contém reagentes suficientes para processar 10 amostras. O kit contém o seguinte:

Cartuchos do Xpert EV com tubos de reação integrados	10 cartuchos/kit
• Esfera 1, Esfera 2, e Esfera 3, Esfera 4, Esfera 5 (liofilizadas)	1 de cada por cartucho
Reagente de ligação (etanol) (1)	10 x 1 ml
Reagente de lavagem (2)	10 x 3,2 ml
Reagente de eluição (3)	10 x 2,0 ml
Reagente de lise (tiocianato de guanidina) (4)	10 x 300 µl
CD	1 por kit
• Ficheiro de definição do ensaio (ADF—assay definition file)	
• Instruções para importar o 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 soroalbumina 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.

7 Conservação e manuseamento

- Conserve os cartuchos e reagentes do Xpert EV entre 2 °C e 28 °C.
- Não abra um cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Utilize o cartucho e os reagentes dentro de 30 minutos após a abertura da embalagem.
- Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.
- Não utilize nenhum reagente que esteja turvo ou que apresente alteração da cor.

8 Materiais necessários mas não fornecidos


- Sistema GeneXpert Dx (o número de catálogo varia consoante a configuração): instrumento GeneXpert, computador, leitor de códigos de barras e manual do utilizador
- Impressora: caso necessite de uma impressora, contacte o Representante de Vendas da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.

- Pipeta de 200 µl
- Pontas de pipeta de 200 µl esterilizadas

9 Advertências e precauções

- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Não substitua os reagentes Xpert EV por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do Xpert EV, exceto ao adicionar a amostra e os reagentes.
- Não carregue um cartucho Xpert EV que tenha caído ou que tenha sido agitado depois de ter inserido a amostra e os reagentes.
- Não carregar um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Não abra cartuchos do Xpert EV usados.
- ⊘ Não reutilize cartuchos do Xpert EV gastos.
- Não congelar nem descongelar as amostras mais do que duas vezes.
- Não utilize amostras que tenham sido centrifugadas.
- ⚠ O reagente de lise contém tiocianato de guanidina, que pode formar compostos altamente reativos quando combinados com lixívia. Se for derramado líquido contendo este reagente, limpe a área com detergente de laboratório e água.
- ☠ Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Todas as amostras biológicas devem ser manuseadas usando precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos CDC (Centers for Disease Control and Prevention)⁵ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.⁶
- 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).

10 Perigos químicos^{7,8}

- Pictograma de perigo GHS da ONU: 
- Palavra-sinal: PERIGO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Líquido e vapor facilmente inflamáveis
 - Nocivo por ingestão
 - Provoca irritação cutânea
 - Provoca irritação ocular grave
 - Nocivo por inalação
 - Pode provocar sonolência ou vertigens
 - Suspeito de provocar anomalias genéticas.
 - Tóxico para os organismos aquáticos
 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros

Recomendações de prudência GHS da ONU

- **Prevenção**
 - Pedir instruções específicas antes da utilização.
 - Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
 - Evite respirar névoas, vapores e/ou aerossóis.
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
 - Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.

- Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados.
- Evitar a libertação para o ambiente.
- Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- Usar o equipamento de proteção individual exigido.
- **Resposta**
 - EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.
 - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
 - 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.
 - EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.
- **Armazenamento/Eliminação**
 - Armazenar em local bem ventilado. Manter o recipiente bem fechado.
 - Armazenar em local fechado à chave.
 - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

11 Colheita, transporte e conservação de amostras

Colha o LCR num recipiente estéril e transporte-o para o laboratório segundo os procedimentos operacionais padrões da sua instituição. Conserve as amostras a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C até à realização do teste ou congele as amostras se não efetuar o teste no prazo de 72 horas após a colheita. Não congelar nem descongelar as amostras mais do que duas vezes. Não se recomenda a centrifugação da amostra.

12 Procedimento

12.1 Preparação do cartucho

Para adicionar a amostra e os reagentes ao cartucho (Figura 1):

1. Retire o cartucho e os reagentes da embalagem.
2. Abra a ampola do reagente de fixação (1), rodando e partindo a tampa.
3. Insira a ponta da ampola do reagente de fixação (1) na câmara do cartucho 1 e aperte a ampola até esvaziar todo o conteúdo.
4. Abra a ampola de reagente de lavagem (2), rodando e partindo a tampa.
5. Insira a ponta da ampola do reagente de lavagem (2) na câmara do cartucho 2 e aperte a ampola até esvaziar todo o conteúdo.
6. Abra a ampola do reagente de eluição (3), rodando e partindo a tampa.
7. Insira a ponta da ampola do reagente de eluição (3) dentro da câmara do cartucho 3 e aperte a ampola até esvaziar todo o conteúdo.
8. Utilizando a pipeta de 200 µl, adicione 140 µl do reagente de lise (4) à câmara do cartucho 4S. Elimine o frasco do reagente de lise (4).
9. Utilizando a pipeta de 200 µl, adicione 140 µl da amostra à câmara do cartucho 4S. Para prevenir a formação de grandes bolhas de ar, não se esqueça de segurar a ponta da pipeta no topo da câmara e dispensar a amostra lentamente.
10. Feche a tampa do cartucho.

Importante Coloque o cartucho no instrumento GeneXpert Dx e inicie o teste no prazo de 30 minutos após a adição dos reagentes.

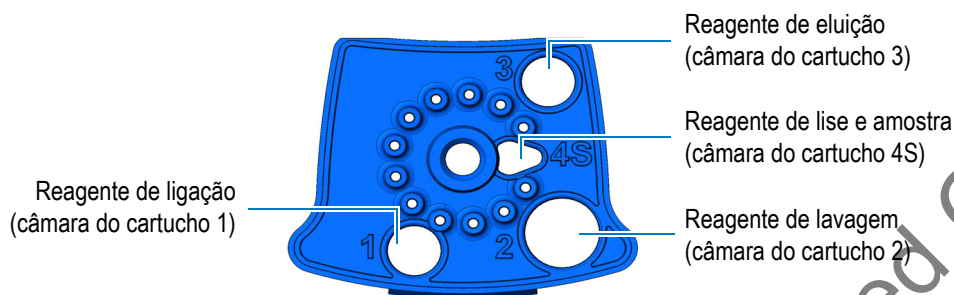


Figura 1. Cartucho do Xpert EV (vista de cima)

12.2 Iniciar o teste

Nota Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio do Xpert EV é importado para o software (ver instruções incluídas no CD do ensaio). Se não tiver o CD do ensaio Xpert EV, contacte a assistência técnica da Cepheid.

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

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

13 Visualização e impressão de resultados

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

14 Controlo de qualidade

CONTROL

Os requisitos de controlo de qualidade devem ser cumpridos em conformidade com os regulamentos ou requisitos de acreditação locais, estaduais e/ou federais e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório.

Cada teste inclui dois controlos internos para validar o ensaio: Controlo de processamento da amostra/controlo interno e verificação da sonda. As amostras de teste são controladas de acordo com os seguintes procedimentos:

- Controlo de processamento da amostra/controlo interno (SPC/IC)**—O SPC/IC é um pseudovírus ARN encapsulado sob a forma de uma esfera liofilizada que está incluída em cada cartucho. O SPC/IC verifica a lise adequada do EV-alvo e o processamento da amostra e deteta interferência com o ensaio.
 É misturado com a amostra para controlar o processamento adequado da amostra e monitorizar a integridade do ensaio de RT-PCR. O SPC/IC é considerado aprovado se preencher os critérios de aceitação validados. Tenha em atenção que no software do sistema GeneXpert Dx, CIC é o nome do SPC/IC.
- Verificação da sonda**—Antes do início da reação PCR, o sistema realiza uma verificação da sonda no alvo EV e no SPC/IC para verificar a reidratação da esfera do reagente e o enchimento do tubo de reação. Cada verificação da sonda é considerada aprovada se corresponder aos critérios de aceitação validados.
- Controlos externos**—Os controlos externos devem ser usados para formação, testes de proficiência e CQ externo do sistema GeneXpert Dx. Devem utilizar-se controlos externos de acordo com as organizações de acreditação locais, estaduais e federais, conforme aplicável. Os controlos externos podem ser preparados diluindo Coxsackievírus A9 estirpe Bozek ou Coxsackievírus A6 estirpe C.G. (Gdula) com amostras negativas comprovadas de LCR de doentes ou com LCR sintético (p. ex., SeraCare Life Sciences Inc. Referência HSP-515) a, aproximadamente, 10^6 – 1.000 TCID₅₀/ml que resulta num intervalo de C_t entre 32 e 35 de EV para o ensaio Xpert EV.

15 Interpretação dos resultados

Os resultados estão disponíveis na janela Ver resultados (View Results) do sistema GeneXpert Dx. Os possíveis resultados são descritos nesta secção.

Nota

Na janela Ver resultados (View Results) do sistema GeneXpert Dx, o SPC/IC é apresentado como CIC na coluna Nome do analito (Analyte Name).

Cuidado



Os resultados obtidos com o ensaio Xpert EV só devem ser utilizados como auxiliares das observações clínicas e de outras informações disponibilizadas ao médico. Resultados positivos no Xpert EV não excluem outras causas de meningite, incluindo bactérias, micobactérias, outros vírus (p. ex., vírus da família herpes, arbovírus, vírus da papeira, etc.) e fungos.

Tabela 1. Resultados e interpretação do ensaio Xpert EV

Resultado	Interpretação
POSITIVO (POSITIVE) Figura 2	Ácido nucleico do EV-alvo é detetado (sistema GeneXpert Dx—janela Ver resultados (View Results)). Atenção, o SPC/IC é apresentado como CIC): <ul style="list-style-type: none"> • EV—POSIT. (EV—POS) • CIC (SPC/IC)—NA (Se a titulação de EV for elevada, a RT-PCR para o SPC pode ser suprimida.) • Verificação da sonda—APROVADO (Probe Check—PASS) • Resultados positivos no Xpert EV não excluem outras causas de meningite, incluindo bactérias, micobactérias, outros vírus (p. ex., vírus da família herpes, arbovírus, vírus da papeira, etc.) e fungos.
NEGATIVO (NEGATIVE) Figura 3	Ácido nucleico de EV-alvo não é detetado, mas SPC cumpre critérios de aceitação (sistema GeneXpert Dx—janela Ver resultados (View Results)). Atenção, o SPC/IC é apresentado como CIC): <ul style="list-style-type: none"> • EV—NEGAT. (EV—NEG) • CIC (SPC/IC)—APROVADO [CIC (SPC/IC)—PASS] • Verificação da sonda—APROVADO (Probe Check—PASS) • Resultados negativos no Xpert EV não excluem enterovírus como causa de meningite, mas indicam que não foi detetado enterovírus.

Tabela 1. Resultados e interpretação do ensaio Xpert EV (Continuação)

Resultado	Interpretação
INVÁLIDO (INVALID) Figura 4	Não é possível determinar presença ou ausência de ácidos nucleicos de EV-alvo, repita o teste com amostras adicionais. O SPC/IC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR está inibida (sistema GeneXpert Dx—janela Ver resultados (View Results)). Atenção, o SPC/IC é apresentado como CIC): <ul style="list-style-type: none"> EV—INVÁLIDO (EV—INVALID) CIC (SPC/IC)—FALHO [CIC (SPC/IC)—FAIL] Verificação da sonda—APROVADO (Probe Check—PASS)
ERRO (ERROR)	Não é possível determinar presença ou ausência de ácidos nucleicos de EV-alvo, repita o teste com amostras adicionais. O controlo de verificação da sonda falhou, possivelmente devido ao enchimento incorreto do tubo de reação, à deteção de um problema com a integridade da sonda ou ao cancelamento do ensaio: <ul style="list-style-type: none"> EV—SEM RESULTADO (EV—NO RESULT) CIC (SPC/IC)—SEM RESULTADO [CIC (SPC/IC)—NO RESULT] Verificação da sonda—FALHO (Probe Check—FAIL)
SEM RESULTADO (NO RESULT)	Não é possível determinar presença ou ausência de ácidos nucleicos de EV-alvo, repita o teste com amostras adicionais. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste (por exemplo, o utilizador parou um teste que estava em curso): <ul style="list-style-type: none"> EV—SEM RESULTADO (EV—NO RESULT) CIC (SPC/IC)—SEM RESULTADO [CIC (SPC/IC)—NO RESULT] Verificação da sonda—NA (Probe Check—NA)

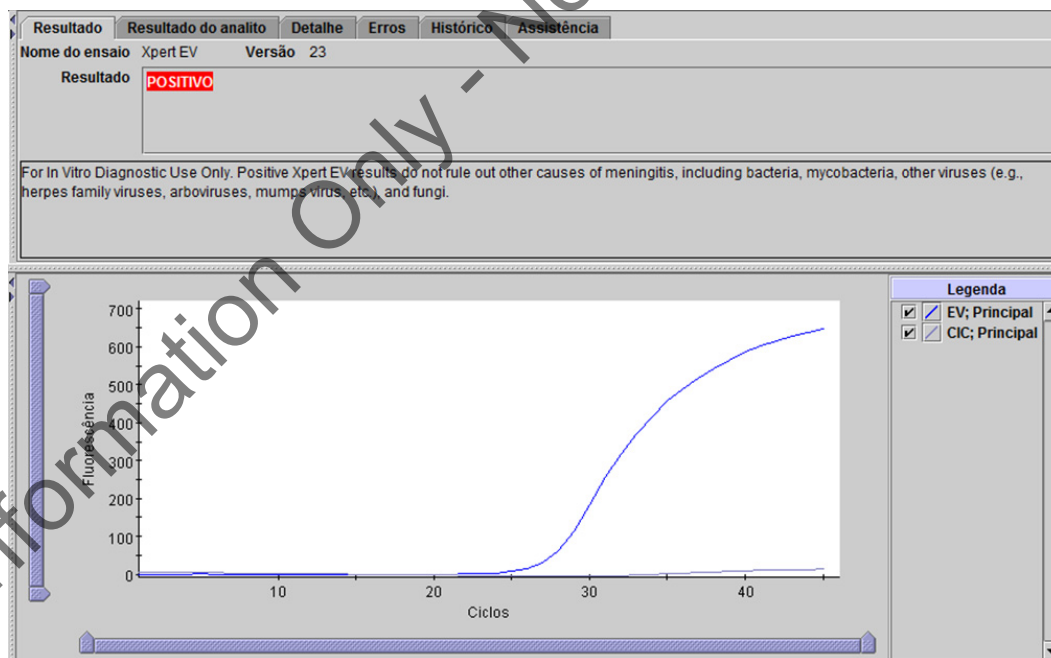


Figura 2. Resultado positivo do Xpert EV
(Sistema GeneXpert® Dx—janela Ver resultados (View Results). Atenção, o SPC/IC é apresentado como CIC.)

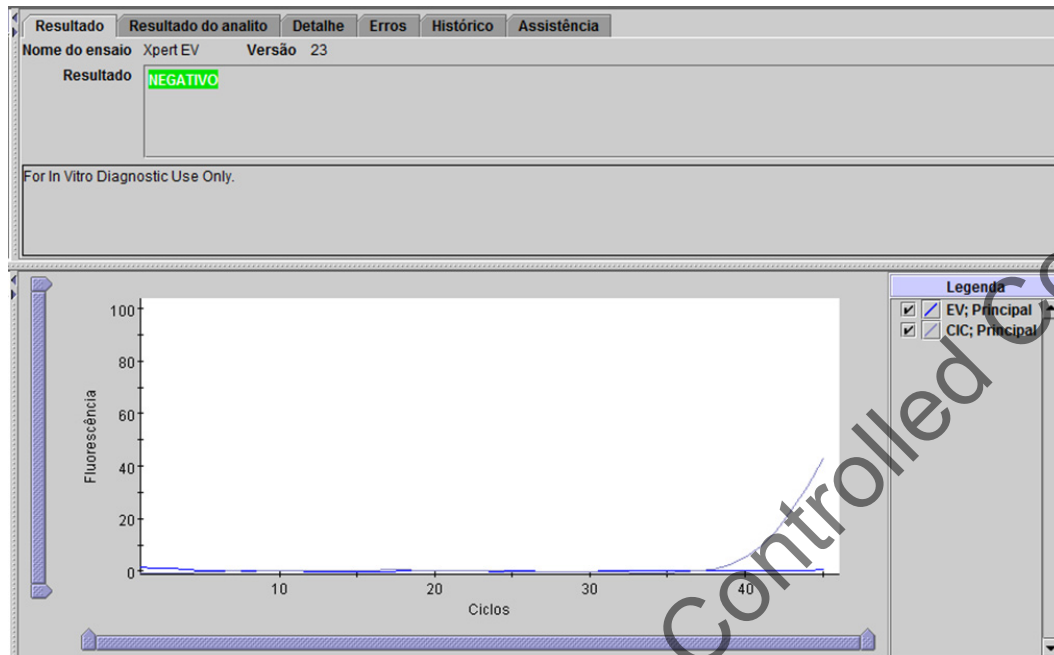


Figura 3. Resultado negativo do Xpert EV
(Sistema GeneXpert® Dx—janela Ver resultados (View Results). Atenção, o SPC/IC é apresentado como CIC.)



Figura 4. Resultado inválido do Xpert EV
(Sistema GeneXpert® Dx—janela Ver resultados (View Results). Atenção, o SPC/IC é apresentado como CIC.)

16 Motivos para repetir o ensaio

16.1 Motivos para repetir o teste

Repita o ensaio com uma amostra fresca se forem gerados os seguintes resultados:

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

- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o controlo de verificação da sonda falhou e que o ensaio foi abortado, possivelmente devido ao tubo de reação não ter sido adequadamente enchido, à deteção de um problema de integridade da sonda de reagente ou a terem sido excedidos os limites de pressão máxima.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.

17 Limitações

- Os resultados do ensaio Xpert EV deverão ser interpretados em conjunção com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha. Um resultado positivo do ensaio Xpert EV não exclui a presença de outros agentes patogénicos como bactérias no LCR. Tal como qualquer ensaio molecular, os resultados falsos positivos são sempre uma possibilidade. Foram comunicadas ocorrências raras de meningite bacteriana e viral em simultâneo.^{9, 10, 11} O desempenho do ensaio Xpert EV foi validado utilizando os procedimentos detalhados neste folheto informativo e apenas com o sistema GeneXpert Dx da Cepheid. Estes procedimentos não devem ser alterados pois tal pode alterar o desempenho do teste.
- O ensaio Xpert EV destina-se apenas à deteção de enterovírus. Resultados de teste negativos não excluem a presença de enterovírus. Este teste não exclui a possibilidade de meningite induzida pelo vírus herpes ou meningite fúngica; é necessário realizar testes adicionais para excluir estas infeções.
- Resultados 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.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador (primer) ou da sonda podem afetar a deteção de variantes novas ou desconhecidas e podem originar um resultado falso negativo.

Cuidado



Tal como em outros procedimentos de diagnóstico, os resultados obtidos com o ensaio Xpert EV só devem ser utilizados como auxiliares das observações clínicas e de outras informações disponibilizadas ao médico. Resultados positivos no Xpert EV não excluem outras causas de meningite, incluindo bactérias, micobactérias, outros vírus (p. ex., vírus da família herpes, arbovírus, vírus da papeira, etc.) e fungos.

18 Substâncias que interferem

Foram realizados estudos com substâncias potencialmente interferentes encontradas em amostras de LCR. As substâncias testadas foram leucócitos, proteínas, sangue total e hemoglobina. O teor de leucócitos foi testado utilizando leucócitos (células de leucemia de origem humana K562) adicionadas no LCR.

Para estudar a potencial interferência de punções sanguinolentas, foram testadas amostras de LCR de origem humana contaminadas com vários níveis de sangue (até 125 000 hemácias/mm³).

Os intervalos de concentração e as substâncias interferentes encontradas em amostras de LCR normais estão indicados na Tabela 2. Também estão indicados os potenciais intervalos encontrados em amostras de LCR de indivíduos com meningite. Cada substância foi contaminada com níveis que poderiam ser encontrados em indivíduos saudáveis ou com meningite.

Todos os testes foram efetuados com LCR contaminado com o serótipo CVA9 de enterovírus a 80 TCID₅₀/ml (~3x LOD).

Tabela 2. Amostras de substâncias endógenas potencialmente interferentes testadas no Xpert EV

Substância	Intervalo de concentração encontrado em LCR saudável	Intervalo de concentração em LCR potencial (com meningite)	Amostra testada com o Xpert EV	Concentrações testadas
Leucócitos	0 - 5 células/mm ³	5 - 5.000 células/mm ³	Células K562	Células/mm ³ : 0, 3,57, 35,7, 357, 7.140
Proteínas no LCR	13 mg/dl - 40 mg/dl	15 mg/dl - 217 mg/dl	BSA: IgG (rácio 1:1)	Concentração de proteínas mg/dl 0, 30, 300, 1.071
Sangue	Nenhum	Não aplicável	14 punção sanguinolenta LCR humano	0% a aproximadamente 2,5% v/v de sangue

Tabela 2. Amostras de substâncias endógenas potencialmente interferentes testadas no Xpert EV (Continuação)

Substância	Intervalo de concentração encontrado em LCR saudável	Intervalo de concentração em LCR potencial (com meningite)	Amostra testada com o Xpert EV	Concentrações testadas
Hemoglobina	12 g/dl - 18 g/dl hemácias	Não aplicável, exceto em punções sanguinolentas	Hemoglobina (pó ferroso) adicionado ao LCR	HgB g/dl 0, 0,36, 0,71, 2,14, 3,6 [Representa aproximadamente v/v de sangue no LCR, respetivamente: 0%, 2,5%, 5%, 15%, 25%]

Tal como indicado na Tabela 3, foram obtidos resultados positivos para enterovírus mesmo quando o nível mais elevado de substância potencialmente interferente foi introduzido no ensaio.

Tabela 3. Resultados do estudo com amostras de substâncias endógenas potencialmente interferentes testadas no Xpert EV

Substância interferente	Concentração	C _t de EV
Nenhum (controlo n = 8)	Não aplicável	36,1
Proteína (n = 4)	1,071 mg/dl	38,2
Leucócitos (n = 4)	7,140 células/mm ³	37,2
Punção sanguinolenta, amostra 1	2,5% v/v de sangue	35,9
Punção sanguinolenta, amostra 2	2,5% v/v de sangue	35,0
Punção sanguinolenta, amostra 3	2,5% v/v de sangue	35,3
Hemoglobina (n = 4)	3,6 g/dl	36,9

19 Características do desempenho

19.1 Desempenho clínico

As características do desempenho do ensaio Xpert EV foram determinadas num estudo de investigação multicêntrico realizado em seis instituições.

Para serem inscritos no estudo, os doentes tinham de ser submetidos a punção lombar devido a sintomas de meningite, e um teste de EV e/ou teste de cultura viral tinha de ser solicitado pelo médico. Os doentes tinham de ter um volume excessivo de LCR suficiente (igual ou superior a 0,5 ml) e tinham de assinar o formulário de consentimento informado. As amostras dos doentes foram excluídas se o LCR para teste de ácidos nucleicos foi centrifugado ou se o ensaio Xpert EV e os ensaios utilizados para determinação de verdade clínica não foram realizados no mesmo ciclo de congelamento e descongelamento da amostra. Também foram considerados os antecedentes médicos dos doentes: sinais clínicos e sintomas; dias desde o início dos sintomas; temperatura máxima; histórico de contactos; hemácias, leucócitos e diferencial no LCR; glucose e proteína total no LCR; cultura bacteriana e coloração de gram do LCR; glucose no sangue; e cultura viral de outras amostras, se disponíveis.

Considerava-se que os doentes tinham meningite EV (diagnóstico clínico) quando estavam cumpridos os seguintes critérios: evidências clínicas consistentes com meningite, resultados laboratoriais da coloração de gram do LCR, cultura bacteriana do LCR, glucose no LCR, rácio LCR-glucose no sangue, concentração de proteínas totais no LCR, contagem de leucócitos no LCR e deteção de um genoma de EV no LCR e/ou cultura positiva de EV no LCR.

Inicialmente, foram recrutados 475 doentes para inscrição. Quarenta e um doentes não cumpriam os critérios de inclusão do estudo e foram, assim, eliminados da análise. Dos restantes 434 participantes analisáveis, 255 tinham resultados de todos os testes acima descritos.

Foram inscritos 199 doentes prospetivos elegíveis, 133 tinham os 6 resultados laboratoriais para avaliação da “verdade clínica”. A sensibilidade e especificidade clínicas do Xpert EV estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4. Amostras clínicas prospetivas avaliadas face ao “diagnóstico clínico”

Diagnóstico clínico ^a			
Xpert EV			
		+	-
	+	26	3
-	1	103	
Totais		27	106

Sensibilidade clínica: 96,3% (26/27); IC de 95%: 81,0% - 99,9%
 Especificidade clínica: 97,2% (103/106); IC de 95%: 91,9% - 99,4%

Foram inscritos 235 doentes retrospectivos elegíveis, 122 tinham os 6 resultados laboratoriais para avaliação da “verdade clínica”. A sensibilidade e especificidade clínicas do Xpert EV estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5. Amostras clínicas colhidas prospetivamente e conservadas em banco avaliadas face ao “diagnóstico clínico”

Diagnóstico clínico ^a			
Xpert EV			
		+	-
	+	23	3
-	0	96	
Totais		23	99

Sensibilidade clínica: 100% (23/23); IC de 95%: 85,2% - 100%
 Especificidade clínica: 97,0% (96/99); IC de 95%: 91,4% - 99,4%

- a. Considerava-se que os doentes tinham meningite EV (diagnóstico clínico) quando estavam cumpridos os seguintes critérios: evidências clínicas consistentes com meningite, resultados laboratoriais da coloração de gram do LCR, cultura bacteriana do LCR, glucose no LCR, rácio LCR-glucose no sangue, concentração de proteínas totais no LCR, contagem de leucócitos no LCR e deteção de um genoma de EV no LCR ou cultura positiva de EV no LCR.

As 133 amostras clínicas prospetivas e as 122 amostras clínicas colhidas prospetivamente e conservadas em banco foram agrupadas por idade. A sensibilidade e especificidades clínicas de cada grupo etário estão descritas na Tabela 6.

Tabela 6. Desempenho clínico do ensaio Xpert EV com referência ao “diagnóstico clínico” por idade

Idade	Amostras clínicas prospetivas		Amostras clínicas colhidas prospetivamente e conservadas em banco	
	Sensibilidade clínica	Especificidade clínica	Sensibilidade clínica	Especificidade clínica
Neonatal (idade inferior a 2 meses)	100,0% (14/14)	96,0% (24/25)	100,0% (4/4)	90,0% (18/20)
Pediátrica (2 meses a 17 anos)	92,3% (12/13)	97,2% (69/71)	100,0% (14/14)	98,1% (51/52)
Adulta (idade igual ou superior a 18 anos)	(0/0)	100,0% (10/10)	100,0% (5/5)	100,0% (27/27)
Global	96,3% (26/27)	97,2% (103/106)	100% (23/23)	97,0% (96/99)

Foram realizadas culturas virais em 73,7% (320/434) das amostras elegíveis; as restantes não tinham LCR suficiente para cultura. As amostras de LCR de 263 participantes com volume excessivo suficiente foram enviadas para um laboratório central designado para cultura viral. Adicionalmente, foram realizadas culturas virais de 114 amostras de doentes nos centros do estudo. Destes 114 participantes, foram realizadas culturas virais de 57 amostras de doentes tanto nos centros do estudo como no laboratório central. Cinquenta e seis dos 57 participantes tiveram resultados de cultura concordantes, um participante teve resultados discrepantes entre a cultura local e central.

O laboratório central utilizou frascos Super E-Mix Shell para a cultura viral e as células foram coradas com anticorpos pan-enterovírus. As células com resultado positivo para anticorpos pan-enterovírus foram adicionalmente coradas com anticorpos por imunofluorescência indireta para identificação do enterovírus. Cada centro do estudo utilizou o respetivo procedimento padrão para cultura viral.

Das 199 amostras prospetivas elegíveis, 131 tinham resultados de cultura viral. Não houve resultados discrepantes relativamente ao teste de cultura viral entre os centros do estudo e o laboratório central. As concordâncias positivas e negativas entre o Xpert EV e a cultura viral estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7. Amostras clínicas prospetivas avaliadas face a cultura viral

Cultura viral			
		+	-
Xpert EV	+	8	13
	-	0	110
Totais		8	123

Concordância positiva: 100,0% (8/8); IC de 95%: 63,1% - 100,0%

Concordância negativa: 89,4% (110/123); IC de 95%: 82,65% - 94,3%

Das 235 amostras retrospectivas elegíveis, 211 tinham resultados de cultura viral. As concordâncias positivas e negativas entre o Xpert EV e a cultura viral estão descritas na Tabela 8.

Tabela 8. Amostras clínicas colhidas prospetivamente e conservadas em banco avaliadas face a cultura viral

Cultura viral			
		+	-
Xpert EV	+	22	35
	-	1	153
Totais		23	188

Concordância positiva: 95,7% (22/23); IC de 95%: 78,1% - 99,9%

Concordância negativa: 81,4% (153/188); IC de 95%: 75,1% - 86,7%

Os 434 doentes elegíveis estão agrupados por idade e género; o número e a percentagem de casos positivos estão calculados e mostrados na Tabela 9.

Tabela 9. Valores esperados do Xpert EV numa população com sinais e sintomas consistentes com meningite

Intervalo etário (anos)	Sexo	Resultado do Xpert EV		Total
		N positivo (%)	N negativo (%)	
< 1	M	34 (29,3)	82 (70,7)	116
	F	26 (28,3)	66 (71,7)	92
1 - 5	M	8 (25,0)	24 (75,0)	32
	F	3 (11,1)	24 (88,9)	27

Tabela 9. Valores esperados do Xpert EV numa população com sinais e sintomas consistentes com meningite (Continuação)

Intervalo etário (anos)	Sexo	Resultado do Xpert EV		Total
		N positivo (%)	N negativo (%)	
6 - 10	M	3 (31,4)	24 (68,6)	35
	F	3 (17,6)	14 (82,4)	17
11 - 15	M	8 (33,3)	16 (66,7)	24
	F	3 (15,0)	17 (85,0)	20
16 - 21	M	3 (20,0)	12 (80,0)	15
	F	3 (25,0)	9 (75,0)	12
>21	M	2 (10,0)	18 (90,0)	20
	F	3 (12,5)	21 (87,5)	24
Total		107 (24,7)	327 (75,3)	434

19.2 Teste de reatividade analítica/serótipo de enterovírus

Foram testados 60 serótipos de enterovírus com o ensaio Xpert EV. As diluições do material viral foram executadas em réplicas de 3 para cada serótipo ao LOD presumido. As diluições foram realizadas em amostras de origem humana negativas para EV agrupadas. A sensibilidade analítica estimada é apresentada na Tabela 10 em baixo.

Sessenta dos serótipos foram testados e o TCID₅₀/ml estimado no qual estes serótipos podem ser detetados está mostrado na Tabela 10.

Tabela 10. Sensibilidade analítica estimada

Espécie	Serótipo	TCID ₅₀ /ml estimado
A	Coxsackie A3	5,01
A	Coxsackie A5	12,59
A	Coxsackie A6	12,59
A	Coxsackie A7	3,33
A	Coxsackie A10	2,81
A	Coxsackie A12	19,95
A	Coxsackie A14	0,10
A	Coxsackie A16	0,002
A	EV 71	0,16
B	Coxsackie A9	20,00
B	Coxsackie B1	4,00
B	Coxsackie B2	0,20
B	Coxsackie B3	0,028
B	Coxsackie B4	0,40
B	Coxsackie B5	0,04
B	Coxsackie B6	0,01
B	Echo 1	0,10
B	Echo 2	0,032
B	Echo 3	200,00
B	Echo 4	0,00032

Tabela 10. Sensibilidade analítica estimada (Continuação)

Espécie	Serótipo	TCID ₅₀ /ml estimado
B	Echo 5	0,032
B	Echo 6	200,00
B	Echo 7	2,00
B	Echo 8	0,10
B	Echo 9	2,00
B	Echo 11	40,00
B	Echo 12	1,58
B	Echo 13	0,01
B	Echo 14	0,0005
B	Echo 15	0,0032
B	Echo 16	0,0005
B	Echo 17	0,05
B	Echo 18	0,0002
B	Echo 19	2,51
B	Echo 20	0,032
B	Echo 21	1,00
B	Echo 24	0,02
B	Echo 25	0,50
B	Echo 26	0,032
B	Echo 27	0,00032
B	Echo 29	5,01
B	Echo 30	0,01
B	Echo 31	0,0032
B	Echo 32	0,10
B	Echo 33	0,05
B	EV 69	0,0002
C	Coxsackie A11	0,11
C	Coxsackie A13	13,27
C	Coxsackie A15	0,0032
C	Coxsackie A17	1,58
C	Coxsackie A18	0,02
C	Coxsackie A19	0,03
C	Coxsackie A20	0,002
C	Coxsackie A21	0,03
C	Coxsackie A22	0,02
C	Coxsackie A24	0,10
D	EV 68	199,53
D	EV 70	2,00
Poliovírus	Poliovírus 1 ^a	2,00
Poliovírus	Poliovírus 2 ^a	0,40

Tabela 10. Sensibilidade analítica estimada (Continuação)

Espécie	Serótipo	TCID ₅₀ /ml estimado
Poliovírus	Poliovírus 3 ^a	20,00



- a. ATENÇÃO: Ao trabalhar com Poliovírus, certifique-se de que são seguidos os procedimentos de contenção com o nível de biossegurança adequado.

20 Especificidade analítica

As sequências de iniciador e sonda utilizadas no ensaio Xpert EV não detetam ácidos nucleicos extraídos dos seguintes organismos conhecidos como causadores de sintomas semelhantes a meningite: EBV, VHS-1, VHS-2, VHH-6, VHH-7, AdV-2, Sarampo, Papeira, Parainfluenza 1-3, Gripe A, Gripe B, VZV, CMV, Streptococcus do Grupo B, *Haemophilus influenzae* B, *H. influenzae* não-B, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitides*, *Citrobacter freundii* e *Citrobacter koseri*. O ensaio Xpert EV também não gera quaisquer amplicões detetáveis quando os “organismos totais” dos agentes patogênicos indicados são processados no cartucho do Xpert EV. A tabela em baixo apresenta os organismos testados e a concentração de cada organismo testado.

Os organismos totais foram testados quanto à especificidade no ensaio Xpert EV e as concentrações dos organismos testados são mostradas na Tabela 11.

Tabela 11. Especificidade analítica do ensaio Xpert EV

Organismo	N.º organismos/teste
VHH-6	$3,1 \times 10^6$ partículas
VHH-7	$1,4 \times 10^7$ partículas
CMV	700 TCID ₅₀
EBV	140 TCID ₅₀
VHS-1	$1,4 \times 10^5$ TCID ₅₀
VHS-2	$1,4 \times 10^5$ TCID ₅₀
AdV-2	$1,4 \times 10^{12}$ TCID ₅₀
Sarampo	700 TCID ₅₀
Papeira	$1,4 \times 10^4$ TCID ₅₀
Parainfluenza 1	$1,4 \times 10^3$ TCID ₅₀
Parainfluenza 2	7×10^3 TCID ₅₀
Parainfluenza 3	$1,4 \times 10^4$ TCID ₅₀
Gripe A	$3,5 \times 10^4$ TCID ₅₀
Gripe B	$3,5 \times 10^4$ TCID ₅₀
VZV	14 TCID ₅₀
Streptococcus do Grupo B	7×10^6 células
<i>H. influenzae</i> B	7×10^6 células
<i>H. influenzae</i> não-B	7×10^5 células
<i>E. coli</i>	7×10^6 células
<i>N. meningitides</i>	7×10^6 células
<i>C. freundii</i>	7×10^6 células
<i>C. koseri</i>	7×10^6 células

21 Sensibilidade analítica

Define-se sensibilidade analítica, ou limite de detecção (LOD), como a concentração mais baixa, ou quantidade de analito demonstrada por análise laboratorial para ser distinguida de formas reprodutível a partir de uma amostra negativa a um intervalo de confiança de 95%. As diluições foram realizadas em amostras de origem humana negativas para EV agrupadas. Para a determinação do LOD com confiança estatística, foram analisadas réplicas de 20, em conjunto com 20 amostras negativas para EV. As amostras analisadas foram: Coxsackievírus A6 (CVA6), Coxsackievírus A9 (CVA9), Coxsackievírus A17 (CVA17), Enterovírus 70 (EV70) e Poliovírus 1 (PV1). Nem todos os 63 serótipos foram analisados em números estatisticamente significativos pois os locais de ligação de iniciadores ou sondas estão conservados em todos os serótipos e o comprimento do amplicão é igual para todos os serótipos. Desta forma, é expectável que a eficiência da amplificação seja igual para todos os serótipos. Os cinco serótipos acima indicados foram selecionadas para representar cada uma das espécies de enterovírus: CVA6 (A), CVA9 (B), CVA17 (C), EV70 (D) e PV1 (poliovírus).

O LOD dos cinco (5) serótipos, um de cada espécie de enterovírus, é apresentado na Tabela 12.

Tabela 12. Limite de detecção dos cinco (5) serótipos

Serótipo	Limite de detecção (TCID ₅₀ /ml)
CVA9	80,0
EV70	1,3
PV1	4,0
CVA17	1,0
CVA6	33,0

22 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi avaliada num estudo multicêntrico, com dupla ocultação, utilizando um painel de precisão composto por quatro amostras. Três centros testaram cada painel três vezes por dia durante 10 dias de teste, obtendo um total de 90 resultados por amostra do painel. O painel de precisão consistiu numa amostra negativa e três amostras positivas, cada uma com um serótipo de EV específico adicionado a LCR sintético a uma concentração próxima do limite de detecção.

A percentagem de concordância, os valores médios de Ct para cada concentração, os respetivos desvios padrão, o coeficiente de variação entre dias e entre centros do estudo multicêntrico de reprodutibilidade são descritos na Tabela 13.

Tabela 13. Resumo dos resultados do primeiro estudo de reprodutibilidade

N.º de amostras corretamente classificadas				Ct de EV médio	Entre dias		Entre centros		Total	
Serótipo (TCID ₅₀ /ml)	Local 1	Local 2	Local 3		DP	% CV	DP	% CV	DP	% CV
Negativo	30/30	30/30	30/30							
CVA6 (134)	30/30	30/30	29/29 ^a	35,0	0,343	0,98%	0,175	0,50%	1,101	3,15%
CVA9 (320)	30/30	30/30	30/30	34,4	0	0,00%	0	0,00%	0,61	1,77%
CVA17 (3)	30/30	30/30	29/29 ^a	33,8	0	0,00%	0	0,00%	0,414	1,22%
Concordância total	120/120	120/120	118/118							
% de concordância	100,00%	100,00%	100,00%							

a. Duas amostras não produziram resultado no GeneXpert.

Foi realizado um segundo estudo para testar os limites do sistema. Foi realizado um estudo de reprodutibilidade interna durante quatro dias diferentes em vários instrumentos GeneXpert (31) e módulos ICORE (121). Foram adicionados dois subtipos de vírus total representativos (nomeadamente, Coxsackievírus CVA9 e Enterovírus EV70) em amostras negativas de LCR de origem humana para criar amostras simuladas a 2 x LOD e 4 x LOD. A amostra negativa foi testada 20 vezes e as duas amostras positivas em ambas concentrações foram testadas cinco (5) vezes por dia. De todas as amostras testadas, duas amostras tiveram resultado “inválido” e três amostras comunicaram “sem resultado” de acordo com as definições de controlo do software do instrumento. Dos 157 resultados comunicáveis, 155 estavam corretamente classificadas.

O nível de concordância, os valores médios de Ct para cada concentração, os respetivos desvios padrão, o coeficiente de variação para cada dia são descritos na Tabela 14.

Tabela 14. Resumo dos resultados do segundo estudo de reprodutibilidade

ID da amostra		Concordância total—Resultados de C _t					% de concordância total
		Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Todos os dias	
Negativo	Concordância total	20/20	18/18 ^a	20/20	20/20	78/78	100%
	(Média)	NA	NA	NA	NA	NA	
	DP	NA	NA	NA	NA	NA	
	% CV	NA	NA	NA	NA	NA	
CA9 2X LOD	Concordância total	4/5 ^b	5/5	4/5 ^b	5/5	18/20	90%
	(Média)	36,65	36,54	36,53	36,54	36,56	
	DP	0,56	0,46	0,21	0,69	0,48	
	% CV	1,53%	1,26%	0,57%	1,89%	1,31%	
CA9 4X LOD	Concordância total	5/5	5/5	5/5	4/4 ^c	19/19	100%
	(Média)	34,98	35,56	35,52	35,03	35,28	
	DP	0,53	0,67	0,7	0,3	0,6	
	% CV	1,52%	1,88%	1,97%	0,86%	1,70%	
EV70 2X LOD	Concordância total	5/5	5/5	5/5 ^d	5/5	20/20	100%
	(Média)	37,38	37,3	37,55	36,88	37,2	
	DP	1,78	0,74	2,01	0,81	1,3	
	% CV	4,76%	1,98%	5,35%	2,20%	3,49%	
EV70 4X LOD	Concordância total	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%
	(Média)	36,50	36,60	36,12	35,94	36,29	
	DP	0,58	0,97	0,29	0,84	0,72	
	% CV	1,59%	2,65%	0,80%	2,34%	1,98%	
Número de instrumentos utilizados		10	11	10	10	31	
Número de módulos utilizados		40	41	41	40	121	

- a. Total de ensaios = 21, 2 - sem resultado, 1 - inválido
b. Total de ensaios = 5, 1 resultado negativo em vez de positivo
c. Total de ensaios = 5, 1 - inválido
d. Total de ensaios = 6, 1 - sem resultado

23 Referências

1. Viral (“Aseptic”) Meningitis. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Infectious Diseases: Respiratory and Enteric Viruses Branch. http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/enterovirus/viral_meningitis.htm (accessed April 11, 2006).
2. Rotbart HA. Viral meningitis. *Semin Neurol.* 2000; 20(3): 277-92.
3. Romero JR, Rotbart HA. Enteroviruses. In: Murray PR, Baron EJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology.* 8th edition. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2003: 1427-1438.
4. Robinson CC, Willis M, Meagher A, et al. Impact of rapid polymerase chain reaction results on management of pediatric patients with enteroviral meningitis. *Pediatric Infectious Disease Journal.* 2002; 21: 283-6.
5. 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.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
7. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
8. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
9. Wright HT, McAllister RM, Ward R. “Mixed” Meningitis: Report of a Case with Isolation of Haemophilus Influenzae Type B and ECHO Virus Type 9 from the Cerebrospinal Fluid. *New England Journal of Medicine.* 1962; 267: 142-144.
10. Sferra TJ, Pacini DL. Simultaneous recovery of bacteria and viral pathogens from cerebrospinal fluid. *Pediatric Infectious Disease Journal.* 1988; 7: 552-556.
11. Dronkert ML, Ketel AG, de Groot R. Simultaneous occurrence of group B Streptococcus and echovirus 20. *European Journal of Pediatrics.* 1996; 155: 915.

24 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

25 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>.

26 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marca CE – Conformidade Europeia
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Para utilização apenas com receita médica
	Perigo de líquidos inflamáveis
	Atenção
	Perigo de aspiração
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Mandatário na Suíça
	Importador



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
EUA
Phone: +1 408.541.4191
Fax: +1 408.541.4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
França
Tel: +33 563 825 300
Fax: +33 563 825 301
Email: support@cepheideurope.com



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



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



For Information Only - Not a Controlled Copy