

# Xpert<sup>®</sup> vanA

**REF** GXVANA-10

Instruções de Utilização

**IVD** **R<sub>x</sub>only**

## **Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright**

### **Trademark, Patents and Copyright Statements**

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

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

© 2011–2024 Cepheid.

See Section 29 Revision History for a description of changes.

Cepheid<sup>®</sup>, o logótipo da Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup>, e Xpert<sup>®</sup> são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

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

© 2011–2024 Cepheid.

Consulte a descrição das alterações na Secção 29, Histórico de revisões.

For Information Only - Not a Controlled Copy

# Xpert<sup>®</sup> vanA

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*



## 1 Nome Proprietário

Xpert<sup>®</sup> vanA

## 2 Nome comum ou usual

Teste Xpert vanA

## 3 Utilização prevista

O teste Xpert vanA da Cepheid realizado no sistema GeneXpert<sup>®</sup> Dx é um teste qualitativo de diagnóstico *in vitro* concebido para uma deteção rápida do gene *vanA* associado a resistência à vancomicina em bactérias obtidas de amostras de zaragoas retais provenientes de doentes em risco de colonização intestinal por bactérias resistentes à vancomicina. O teste utiliza a reação em cadeia de polimerase (PCR) automática em tempo real para detetar o gene *vanA* que está frequentemente associado a enterococos resistentes à vancomicina (VRE — Vancomycin-Resistant Enterococcus). O teste Xpert vanA destina-se a auxiliar na identificação, prevenção e controlo de organismos resistentes à vancomicina que colonizam doentes em unidades de saúde. O teste Xpert vanA não se destina ao diagnóstico de infeções de bactérias resistentes à vancomicina nem à orientação ou monitorização do tratamento de infeções bacterianas resistentes à vancomicina. São necessárias culturas concomitantes para recuperar microrganismos para identificação de bactérias resistentes à vancomicina, testes de suscetibilidade antimicrobiana e tipagem epidemiológica.

## 4 Resumo e explicação

Os enterococos são bactérias aeróbias facultativas Gram-positivas que estão presentes na flora intestinal dos seres humanos. Duas das espécies mais comuns são *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) e *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*).<sup>1</sup> Estima-se que os enterococos representem mais de um terço das infeções ocorridas nas UCI.<sup>2</sup> Os enterococos resistentes à vancomicina (Vancomycin-Resistant Enterococcus, VRE) tornaram-se uma das principais causas de infeções nosocomiais, especialmente em unidades de transplantação e unidades de cuidados intensivos (UCI).<sup>3</sup> À semelhança do *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA), as infeções por VRE estão associadas ao aumento da morbilidade, mortalidade, internamento e custos hospitalares. Dados recentes da rede nacional de segurança nos cuidados de saúde demonstram que o número de infeções por VRE relacionadas com dispositivos é equivalente ao número de infeções por MRSA relacionadas com dispositivos.<sup>4</sup>

Os primeiros isolados de enterococos resistentes ao glicopeptídeo vancomicina foram registados, simultaneamente, em França e no Reino Unido nos finais da década de 1980. Desde então, o número de isolados resistentes aumentou de forma constante.<sup>5</sup> Atualmente, conhece-se seis tipos diferentes de genes mediadores de resistência à vancomicina: *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE* e *vanG*, embora tenham sido também reconhecidos subtipos de *vanB* e *vanD*.<sup>6</sup> Os dois genes com maior relevância clínica são o *vanA* (que confere resistência elevada a teicoplanina e vancomicina) e o *vanB* (que confere resistência moderada a elevada a vancomicina e resistência ocasional a teicoplanina). Embora o determinante *vanA* tenha sido identificado em nove isolados de *Staphylococcus aureus*<sup>7</sup> e espécies estreptocócicas raras provenientes dos EUA, o gene *vanB* apresenta uma disseminação mais ampla entre diversas espécies anaeróbias identificadas no intestino.<sup>8-13</sup> Deste modo, apesar de estudos publicados apontarem para a elevada probabilidade de recuperar enterococos contendo *vanA* numa amostra de fezes positiva para *vanA*,<sup>14</sup> o valor preditivo de recuperação de enterococos contendo *vanB* numa amostra de fezes positiva para *vanB* por PCR é muito inferior. Isto sugere que a utilização de um teste de PCR para deteção de *vanB* na população dos EUA, onde existe a baixa prevalência de enterococos contendo *vanB*, pode resultar no isolamento desnecessário de doentes incorretamente identificados como portadores de VRE por um teste *vanB*.

Tipicamente, a colonização com VRE é adquirida por hospedeiros suscetíveis num ambiente onde existe uma elevada proporção de outros doentes colonizados ou infetados com VRE (p. ex., unidades de cuidados intensivos, unidades de oncologia, etc.). O facto de a colonização resultar ou não em infeção depende das características de virulência do microrganismo e do estado de saúde do indivíduo. Os doentes imunocomprometidos apresentam um risco de infeção inferior comparativamente a indivíduos com um sistema imunitário enfraquecido. Contudo, ambos os grupos podem desenvolver a infeção no seguimento da colonização.<sup>1</sup>

O risco de colonização com VRE foi atribuído à utilização de várias classes antimicrobianas, nomeadamente glicopeptídeos, cefalosporinas de terceira geração, combinações de inibidores beta-lactâmico/beta-lactamase e agentes antimicrobianos com atividade anti-anaeróbia potente.<sup>15</sup> A disseminação de VRE ocorre através do contacto com indivíduos colonizados ou infetados, habitualmente numa instituição de saúde, embora também tenha sido notificada a transmissão em lares. Deste modo, muitas instalações, nomeadamente hospitais pediátricos,<sup>16</sup> estão a implementar programas de vigilância ativa para identificar portadores de VRE e assegurar o isolamento apropriado destes pacientes para reduzir a transmissão do microrganismo.<sup>17</sup> No âmbito dos programas de rastreio para vigilância ativa, as amostras de zaragatoa perirretal ou retal dos doentes são colhidas e testadas quanto a VRE na admissão, uma vez por semana, após a terapêutica antimicrobiana, e após a alta hospitalar.<sup>18</sup>

Os programas de vigilância ativa, em conjunto com as intervenções para o controlo de infeções, nomeadamente lavagem das mãos e precauções no contacto dos doentes, são componentes importantes para prevenir a transmissão da VRE.<sup>16,17</sup> A utilização de testes que fornecem resultam rápidos para a identificação de doentes portadores de VRE também é um fator importante para o controlo e a prevenção eficazes de surtos de infeções nosocomiais por VRE.<sup>14</sup>

## 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 testes de PCR e RT-PCR em tempo real. O sistema consiste num instrumento, computador pessoal e software pré-carregado para realizar testes e ver os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorre esse processo. Dado que os cartuchos são independentes, a contaminação cruzada entre amostras é eliminada. Para obter uma descrição completa do sistema, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

O teste Xpert vanA inclui reagentes para a deteção dos genes com resistência vanA e um controlo de processamento da amostra interno (Sample Processing Control, SPC) para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e para monitorizar a presença de inibidor(es) no teste de PCR. O SPC também assegura que as condições da PCR (temperatura e tempo) são apropriadas para a reação de amplificação e que os reagentes da PCR estão funcionais. O controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

O teste Xpert vanA da Cepheid é um teste de diagnóstico *in vitro* rápido e automatizado para a deteção qualitativa de sequências de genes resistentes à vancomicina vanA diretamente a partir de amostras de zaragatoa retal. O teste Xpert vanA no sistema GeneXpert Dx da Cepheid efetua a reação em cadeia da polimerase (PCR) multiplex em tempo real para a deteção de ADN após um passo inicial de processamento de amostra.

## 6 Reagentes

### 6.1 Materiais fornecidos

O kit do Xpert vanA contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes ou amostras para controlo de qualidade.

O kit contém o seguinte:

<b>Xpert vanA Cartuchos com tubos de reação integrados</b>	<b>10</b>
• Esferas 1, 2 e 3 (secas por liofilização)	1 por cartucho
• Reagente 1	3,0 ml por cartucho
• Reagente 2 (Hidróxido de Sódio)	3,0 ml por cartucho
<b>Xpert vanA Reagente de amostra</b>	<b>10</b>

- Reagente de amostra 1 x 1,7 ml
- CD 1 por kit**
- Ficheiro de Definição do Teste (ADF)
  - Instruções para importar o ADF para o software GX
  - Instruções de utilização (folheto informativo)

**Nota** As fichas de dados de segurança (FDS) estão disponíveis em [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) ou [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

**Nota** A seroalbumina bovina (Bovine Serum Albumin, BSA), presente nas esferas deste produto foi produzida e fabricada a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

## 6.2 Conservação e manuseamento

- Armazene os cartuchos e reagentes Xpert vanA entre 2 °C e 28 °C.
- Não utilize reagentes de amostra ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.
- Não utilize reagentes de amostra que estejam turvos ou descolorados.

## 7 Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema GeneXpert Dx (o número de catálogo varia consoante a configuração): instrumento GeneXpert, computador, lápis ótico para leitura de códigos de barras e manual do utilizador.
  - Para o sistema GeneXpert Dx: Software GeneXpert Dx, versão 2.1 ou posterior
- Impressora: caso necessite de uma impressora, contacte a assistência ao cliente da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Agitador vortex
- Pipetas de transferência estéreis, descartáveis
- Dispositivo de colheita de amostras da Cepheid 900-0370-PT (sistema de zaragatoa dupla de recolha e transporte Copan Venturi Transystem®) (139CFM LQ STUART)

## 8 Materiais disponíveis mas não fornecidos

Gibson Laboratories, LLC, n.º de catálogo CeVRE-01 (*Enterococcus faecium* resistente à vancomicina, vanA) como controlo positivo e n.º de catálogo CeVRE-02 (*Enterococcus faecalis* sensível à vancomicina) como controlo negativo.


Adicionalmente, podem ser obtidas estirpes para estudos de validação juntos da ATCC e dos Centers for Disease Control and Prevention dos EUA, na divisão de promoção da qualidade dos cuidados de saúde.

## 9 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 quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, devem ser todas tratadas com as precauções predefinidas. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention<sup>19</sup> e no Clinical and Laboratory Standards Institute (anteriormente National Committee for Clinical Laboratory Standards).<sup>20</sup>
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- O teste Xpert vanA não fornece resultados de suscetibilidade. É necessária uma alíquota de amostra separada e tempo adicional para fazer cultura e realizar testes de suscetibilidade.
- Não substitua os reagentes de amostra do Xpert vanA por outros reagentes de amostra.

- Não abra a tampa do cartucho Xpert vanA, exceto ao adicionar a amostra ou ao realizar um novo teste.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou sido agitado depois de ter adicionado a amostra.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado (p. ex., dobrado ou partido).
- Cada cartucho de utilização única do Xpert vanA é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- As amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como capazes de transmitir agentes infecciosos que exigem precauções predefinidas. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da vossa 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).
- Armazene o kit Xpert vanA a 2 °C–28 °C.
- O reagente 2 contém hidróxido de sódio (pH > 12,5); (H302, H315, H319), que é corrosivo para os olhos e a pele, exigindo a utilização de proteção dos olhos e da pele.

## 10 Riscos químicos<sup>21, 22</sup>

- Pictograma de perigo GHS da ONU: 
- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
  - Nocivo por ingestão
  - Provoca irritação cutânea
  - Provoca irritação ocular grave
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
  - **Prevenção**
    - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
    - Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.
    - Evitar a libertação para o ambiente.
    - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial
  - **Resposta**
    - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Lavar com sabonete e água abundantes.
    - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
    - Tratamento específico, ver informação de primeiros-socorros suplementar.
    - Em caso de irritação cutânea: Consulte um médico.
    - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. 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.

## 11 Colheita, transporte e conservação de amostras

As amostras de zaragatoa retal podem ser colhidas com o dispositivo de colheita de amostras da Cepheid (referência 900-0370-PT ou equivalente) seguindo os procedimentos padrão da instituição do utilizador. As amostras em zaragatoas são colocadas de novo no tubo para transporte, de plástico (recomenda-se meio líquido de Stuart, dispositivo de colheita da Cepheid ou Copan) e enviadas para a área de teste GeneXpert para processamento. A amostra de zaragatoa pode ser armazenada durante 24 horas à temperatura ambiente ou até 5 dias entre 2 °C e 8 °C antes de realizar o teste. As amostras podem ser testadas após um ciclo de congelação/descongelação.

## 12 Procedimento

### 12.1 Preparação do Cartucho

**Importante** Inicie o teste dentro de 30 minutos após a adição do reagente de amostra ao cartucho.

Para adicionar a amostra ao cartucho (Xpert vanA):

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

**Nota** É necessária apenas uma zaragatoa.

3. Insira a zaragatoa no tubo contendo o reagente de amostra.

**Nota** Utilize gaze estéril para minimizar os riscos de contaminação.

4. Segure na zaragatoa pela haste perto do bordo do tubo, levante a zaragatoa a alguns milímetros do fundo do tubo e empurre a haste contra o bordo do tubo para a quebrar. Certifique-se de que a zaragatoa é suficientemente curta para permitir que a tampa fique bem apertada.
5. Feche a tampa e coloque no agitador vortex na velocidade máxima durante 10 segundos.
6. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência limpa (não fornecida), transfira todos os conteúdos do reagente de amostra para a câmara de amostra do cartucho Xpert vanA.
7. Fechar a tampa do cartucho.

### 12.2 Iniciar o teste

**Antes de iniciar o teste, certifique-se de que:**

- Importante**
- O sistema está a funcionar com a versão do software GeneXpert Dx correta mostrada na secção Materiais necessários mas não fornecidos.
  - O ficheiro de definição do teste correto foi importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

**Nota** Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o GeneXpert Dx System e depois ligue o computador e inicie sessão. O software GeneXpert arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão com o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do **sistema GeneXpert**, clique em **Criar teste (Create Test)**. É apresentada a janela **Criar teste (Create Test)**. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID do doente (Scan Patient ID barcode)**.
4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta.  
A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID da amostra (Scan Sample ID barcode)**.
5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta.  
A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Leia o código de barras do cartucho. 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 não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, será apresentado um ecrã a indicar que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã for apresentado, contacte a assistência técnica da Cepheid.

7. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo apresentada, caso seja necessário.
8. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
9. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar.  
Quando o teste termina, a luz desliga-se.
10. Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e, em seguida, retire o cartucho.
11. Elimine os cartuchos usados no recipiente apropriado para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

## 13 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão de resultados. Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *Manual do utilizador sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

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

## 14 Controlo de qualidade

### 14.1 Controlos de Qualidade Integrados

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

- **Controlo de processamento da amostra (SPC – Sample Processing Sample)** – assegura que a amostra foi processada corretamente. O SPC que está incluído em cada cartucho verifica o processamento adequado das bactérias da amostra. O SPC verifica se ocorreu a lise de bactérias resistentes à vancomicina se os organismos estiverem presentes e verifica se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição associada à amostra do teste de PCR em tempo real. O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC – Probe Check Control)** — Antes do início da reação PCR, o sistema GeneXpert Dx mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

**Controlos externos (External controls)** — podem ser utilizados controlos externos de acordo com os requisitos das organizações de acreditação locais, nacionais e europeias, consoante aplicável.

Fontes para controlos externos:

- Microbiologics®, n.º de catálogo 0366 (*Enterococcus faecalis* sensível à vancomicina)
- Universidade de Gotemburgo (Coleção de Culturas da Universidade de Gotemburgo) CCUG36804 *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina, *vanA*)
- Gibson Laboratories, LLC, n.º de catálogo CeVRE-01 (*Enterococcus faecium* resistente à vancomicina, *vanA*) e n.º de catálogo CeVRE-02 (*Enterococcus faecalis* sensível à vancomicina)



## 15 Interpretação dos Resultados

Os resultados são interpolados pelo sistema do instrumento GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela Ver resultados (View Results) (Figura 1, Figura 2, e Figura 3). Os resultados possíveis são:

Tabela 1. Resultados e interpretação

Resultado	Interpretação
<p><b>POSITIVO (POSITIVE)</b></p> <p>Figura 1</p>	<p>ADN-alvo de <i>vanA</i> detetado.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>vanA</i> POSITIVO (<i>vanA</i> POSITIVE) — O alvo de <i>vanA</i> tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima.</li> <li>SPC — NA (não aplicável): o SPC é ignorado, dado que a amplificação do <i>vanA</i> poderá competir com este controlo.</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<p><b>NEGATIVO (NEGATIVE)</b></p> <p>Figura 2</p>	<p>ADN-alvo de <i>vanA</i> não detetado. O SPC preenche os critérios de aceitação.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>NEGATIVO (NEGATIVE) — Nenhum ADN-alvo de <i>vanA</i> detetado.</li> <li>SPC — APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima.</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<p><b>INVÁLIDO (INVALID)</b></p> <p>Figura 3</p>	<p>A presença ou ausência de <i>vanA</i> não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção Procedimento de repetição do teste abaixo. O SPC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR está inibida.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>INVÁLIDO (INVALID) — não é possível determinar a presença ou ausência de ADN de <i>vanA</i>.</li> <li>SPC — FALHO (FAIL); os resultados do alvo de <i>vanA</i> são negativos, o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido e o ponto final é inferior à definição mínima.</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>

Resultado	Interpretação
<b>ERRO (ERROR)</b>	<p>A presença ou ausência de <i>vanA</i> não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção Procedimento de repetição do teste abaixo. O controlo de verificação da sonda falhou, provavelmente porque o tubo de reação não foi enchido adequadamente, foi detetado um problema de integridade da sonda ou porque os limites de pressão máxima foram excedidos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>vanA</i> — SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SPC — SEM RESULTADO (SPC — NO RESULT)</li> <li>• Probe Check – FALHOU (FAIL)*; todos ou um dos resultados de verificação da sonda falharam</li> <li>• *Se a verificação da sonda passou, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.</li> </ul>
<b>SEM RESULTADO (NO RESULT)</b>	<p>A presença ou ausência de <i>vanA</i> não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção Procedimento de repetição do teste abaixo. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste (por exemplo, o utilizador parou um teste que estava em curso).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>vanA</i> — SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SPC — SEM RESULTADO (SPC — NO RESULT)</li> <li>• Verificação da sonda – não aplicável (Probe Check — NA)</li> </ul>

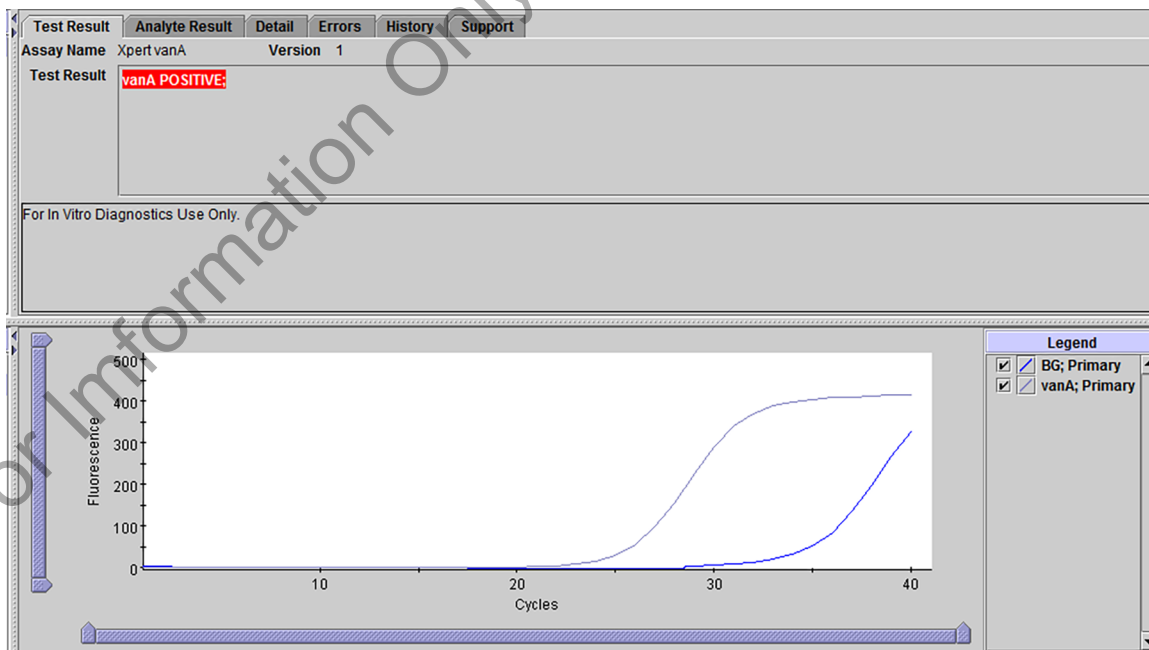


Figura 1. Exemplo de resultado positivo para vanA

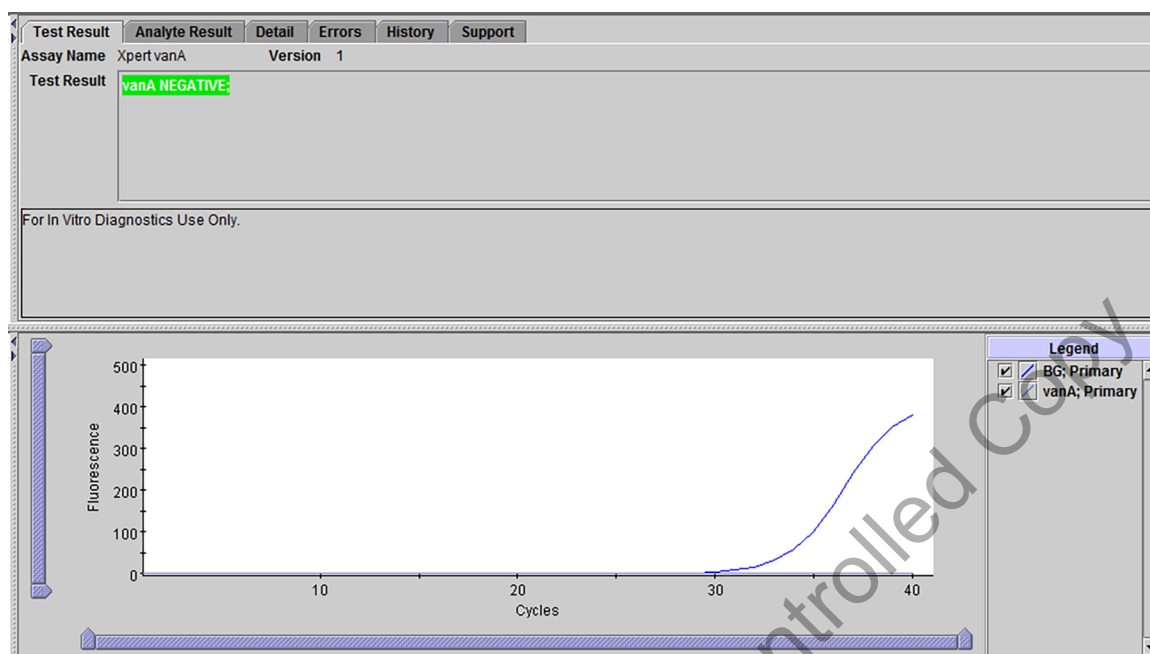


Figura 2. Exemplo de resultado negativo para vanA



Figura 3. Exemplo de um resultado inválido

## 16 Repetição de um teste

### 16.1 Motivos para repetir o teste

Se ocorrer algum dos resultados de teste mencionados abaixo, repita o teste de acordo com as instruções da secção seguinte intitulada Secção 16.2.

Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o controlo de processamento da amostra (Specimen Processing Control, 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 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.

## 16.2 Procedimento de repetição do teste

Para uma repetição de teste dentro de 3 horas da obtenção de um resultado indeterminado (ou seja, **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**), utilize um novo cartucho Xpert vanA (não reutilize o cartucho) e um novo frasco de reagente de amostra. Transfira todo o restante conteúdo da câmara S para um reagente de amostra. Coloque no agitador vortex e adicione a totalidade do conteúdo do reagente de amostra à câmara de amostra do novo cartucho Xpert vanA.

## 17 Limitações

- Desconhece-se o desempenho do teste Xpert vanA da Cepheid para detetar a sequência do gene *vanA* a partir de outros microrganismos que não o *Enterococcus*.
- O desempenho do teste Xpert vanA foi validado utilizando apenas os procedimentos fornecidos nestas Instruções de utilização. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- A utilização de outro sistema de colheita e transporte de amostras que não o dispositivo de colheita de amostras da Cepheid (sistema de zaragatoa dupla de recolha e transporte Copan Venturi Transystem®) (139CFM LQ STUART) não é recomendada nem foi certificada.
- Creme de hidrocortisona (hidrocortisona a 1%) e Pepto-Bismol® (subsalicilato de bismuto a 1%–5%), podem interferir com o teste Xpert vanA. Quando testados no estudo de interferência, o creme de hidrocortisona e Pepto-Bismol® resultaram em valores de Ct ligeiramente superiores ao controlo tampão.
- O teste Xpert vanA deteta apenas o gene *vanA*, não o microrganismo. Portanto, é possível que genes *vanA* presentes em não enterococos, tais como estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina, também apresentem um resultado positivo.
- Devido ao fator de diluição associado ao procedimento de repetição de teste, é possível que as amostras positivas para *vanA* muito próximas do, ou equivalentes ao, limite de deteção (LoD) do teste Xpert vanA possam originar um resultado falso negativo na repetição do teste.
- 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.
- Como a deteção da sequência do gene *vanA* depende do número de organismos que contêm o gene *vanA* presentes na amostra, os resultados fidedignos dependem da correta colheita, manuseamento e conservação da amostra.
- Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de microrganismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de bactérias que contenham *vanA*.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do primer ou da sonda podem afetar a deteção de variantes novas ou desconhecidas de *vanA* e podem originar um resultado falso negativo.
- Os valores preditivos positivo e negativo dependem em grande medida da prevalência. O desempenho do teste Xpert vanA pode variar, dependendo da prevalência e da população testada.
- Os resultados dos testes também podem ser afetados por terapia antibiótica concomitante ou pelo número de organismos na amostra, que pode ser inferior ao limite de deteção do teste.

## 18 Características do Desempenho

### 18.1 Valores esperados

No estudo clínico do teste Xpert vanA, foi incluído um total de 1231 amostras de zaragatoa retal de três centros de estudo. O número e a percentagem de casos positivos de *vanA* por cultura enriquecida com sequenciação bidirecional, calculados por grupo etário, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 2. Prevalência de vanA observada por grupo etário

Grupo etário	N	Prevalência de vanA
2–5	3	0% (0/3)
6–21	19	5,3% (1/19)
22–59	466	12,7% (59/466)
>60	743	13,9% (103/743)

## 18.2 Desempenho Clínico

As características do desempenho do teste Xpert vanA foram determinadas num estudo multicêntrico de investigação prospetiva em três instituições dos EUA, comparando o teste Xpert vanA com a cultura de referência, seguido de sequenciação bidirecional para confirmação em isolados de *Enterococcus* resistentes à vancomicina.

Os sujeitos incluíram indivíduos cujos cuidados de rotina exigiam testes de VRE. Uma zaragatoa de um conjunto de zaragatoa dupla foi utilizada para tratamento de doentes; a outra zaragatoa foi utilizada para o teste Xpert vanA. A zaragatoa restante designada para tratamento de doentes foi enviada para um laboratório central, para cultura de referência.

As zaragatoas de amostras restantes designadas para teste de cultura foram conservadas a 2 °C–8 °C e enviadas em embalagens de gelo para o laboratório de cultura central, no prazo de 48 horas após a colheita. A cultura de referência foi iniciada no prazo de 16 horas após a receção ou no prazo de 5 dias após a colheita da zaragatoa.

Cada zaragatoa foi posteriormente colocada num meio líquido de enriquecimento. As placas foram incubadas a 35 °C e examinadas às 48 e 72 horas. O meio líquido também foi incubado a 35 °C durante 48 horas e objeto de repicagem num ágar de azida de esculina biliar com 6 µg/ml de vancomicina.

Colónias cinzentas de pequena dimensão, com um halo preto, foram consideradas suspeitas de VRE. A identificação presumível foi realizada através da realização de um teste de coloração Gram, catalase e disco pir (L-pirrolidonil-beta-naftilamida). As amostras presumíveis para VRE eram *cocci* ou *coccobacilli* Gram-positivas e pir-positivas. O VRE presumível foi definitivamente identificado utilizando a tira API20S (BioMérieux, França). Por último, os isolados de VRE foram testados relativamente à sua sensibilidade aos glicopeptídeos utilizando tiras de teste de ε com vancomicina (AB Biodisk, Suécia). A sensibilidade à teicoplanina para os isolados foi determinada por diluição em ágar.

Após o teste de cultura de referência, o ADN foi preparado a partir de isolados de *Enterococcus* resistentes à vancomicina e enviado para um segundo laboratório de referência para sequenciação bidirecional utilizando iniciadores alternativos específicos da vanA (ou seja, diferentes dos utilizados no teste Xpert vanA).

O desempenho do teste Xpert vanA foi calculado em relação aos resultados da cultura direta com sequenciação bidirecional e da cultura enriquecida com sequenciação bidirecional.

## 18.3 Resultados globais

Um total de 1231 amostras foi testado pelo teste Xpert vanA, por meio de cultura e sequenciação bidirecional.

### Desempenho vs. cultura direta

Em relação à cultura direta com sequenciação bidirecional, o teste Xpert vanA demonstrou uma concordância positiva percentual de 98,4% e uma concordância negativa percentual de 92,4% (Tabela 3).

Tabela 3. Desempenho do teste Xpert vanA vs. cultura direta com sequenciação bidirecional

Teste Xpert vanV	Cultura direta + sequenciação			
		Pos	Neg	Total
	Pos	126	84	210
	Neg	2	1019	1021
Total	128	1103	1231	
% de concordância positiva: 98,4% % de concordância negativa: 92,4% Exatidão: 93,0% VPP: 60,0% VPV: 99,8% Prevalência: 10,4%				

Dos testes Xpert vanA realizados em amostras elegíveis, 94,0% (1180/1255) dessas amostras obtiveram sucesso na primeira tentativa. Com as restantes 75, foram obtidos resultados indeterminados na primeira tentativa (26 “INVÁLIDO” [“INVALID”], 49 “ERRO” [“ERROR”] e 0 “SEM RESULTADO” [“NO RESULT”]). 62 (sessenta e duas) das 75 indeterminadas na primeira tentativa tiveram amostra suficiente para repetição do teste; 82,3% (51/62) apresentaram um resultado na segunda tentativa. A taxa global de sucesso do teste (combinando a primeira e a segunda tentativas) foi de 98,1% (1231/1255).

#### Desempenho vs. cultura enriquecida

Em relação à cultura enriquecida com sequenciação bidirecional, o teste Xpert vanA demonstrou uma concordância positiva percentual de 86,5% e uma concordância negativa percentual de 93,5% (Tabela 4).

**Tabela 4. Desempenho do teste Xpert vanA vs. cultura enriquecida com sequenciação bidirecional**

Teste Xpert vanV	Cultura enriquecida + sequenciação			
		Pos	Neg	Total
	Pos	141	69	210
	Neg	22	999	1021
Total	163	1068	1231	
% de concordância positiva: 86,5% % de concordância negativa: 93,5% Exatidão: 92,6% VPP: 67,1% VPV: 97,8% Prevalência: 13,2%				

Dos testes Xpert *vanA* realizados em amostras elegíveis, 94,0% (1180/1255) dessas amostras obtiveram sucesso na primeira tentativa. Com as restantes 75, foram obtidos resultados indeterminados na primeira tentativa (26 “INVÁLIDO” [“INVALID”], 49 “ERRO” [“ERROR”] e 0 “SEM RESULTADO” [“NO RESULT”]). 62 (sessenta e duas) das 75 indeterminadas na primeira tentativa tiveram amostra suficiente para repetição do teste; 82,3% (51/62) apresentaram um resultado na segunda tentativa. A taxa global de sucesso do teste (combinando a primeira e a segunda tentativas) foi de 98,1% (1231/1255).

## 19 Utilização de antibióticos

Dos 1231 casos incluídos no conjunto de dados principal, a utilização de antibióticos nas 3 semanas anteriores à colheita da amostra foi relatada em 414, tendo a não-utilização de antibióticos sido confirmada em 483; desconhece-se o estado da toma de antibióticos em 334 casos. A utilização de antibióticos não provocou nenhuma diferença estatisticamente significativa no desempenho do teste.

## 20 Especificidade Analítica

Foram colhidas, quantificadas e testadas 42 estirpes bacterianas e fúngicas utilizando o teste Xpert *vanA*. As estirpes foram obtidas através da American Type Culture Collection (ATCC), da Coleção de Culturas da Universidade de Gotemburgo (CCUG), da Coleção Alemã de Microorganismos e Culturas Celulares (DSMZ) e dos Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

Os organismos testados foram identificados como Gram-positivos (22), Gram-negativos (18), incluindo estirpes de *Pseudomonas spp.* e *Acinetobacter spp.* resistentes a antibióticos, e leveduras (2). Os organismos foram ainda classificados como aeróbios (24), anaeróbios (14) ou microaerófilos (2). As espécies testadas incluíam duas (2) estirpes sensíveis à vancomicina representando *E. faecalis* e *E. faecium*.

Cada estirpe foi testada em triplicado em concentrações que variaram entre  $8,5 \times 10^8$  e  $2,3 \times 10^{10}$  UFC/zaragatoa. As leveduras foram testadas a, aproximadamente,  $10^7$  células por zaragatoa. Foram incluídos no estudo controles positivos e negativos. Nas condições do estudo, todos os isolados foram apresentados como “*vanA* NEGATIVO (*vanA* NEGATIVE)”. A especificidade analítica foi de 100%.

## 21 Reatividade analítica (inclusividade)/Avaliação de um painel de estirpes difíceis bem caracterizado

Foram testadas 30 estirpes de enterococos resistentes à vancomicina (*vanA* e *vanB*) e 20 estirpes de enterococos sensíveis à vancomicina (todas elas fornecidas pelos CDC) utilizando o teste Xpert *vanA*. Das 30 estirpes de enterococos resistentes à vancomicina, 10 foram identificadas como *vanA* e 20 foram identificadas como *vanB* pelos CDC. As estirpes de enterococos foram selecionadas para representar amplamente a diversidade genética encontrada nos enterococos. Foram preparadas culturas de stock através da suspensão do crescimento bacteriano de placas de ágar em tampão PBS contendo 15% de glicerol. A concentração de cada stock foi ajustada para  $5,6 \times 10^9$  para  $2,1 \times 10^{10}$  UFC/ml. Todas as estirpes foram diluídas serialmente a aproximadamente 360 UFC/zaragatoa e testadas em triplicado.

Nas condições deste estudo, todas as 20 estirpes sensíveis à vancomicina foram corretamente apresentadas no relatório como “*vanA* NEGATIVO (*vanA* NEGATIVE)”. Entre as 10 estirpes de enterococos resistentes à vancomicina positivas para *vanA* testadas, uma estirpe foi indicada como “*vanA* NEGATIVO (*vanA* NEGATIVE)”. Quando esta estirpe foi sequenciada, os dados corresponderam 100% a uma sequência de *vanB* de referência, confirmando que o teste Xpert *vanA* notificou corretamente a estirpe como “*vanA* NEGATIVO (*vanA* NEGATIVE)”. As restantes 9 estirpes de enterococos resistentes à vancomicina *vanA* foram corretamente notificadas como “*vanA* POSITIVO (*vanA* POSITIVE)”. Entre as 20 estirpes de enterococos resistentes à vancomicina *vanB* (não *vanA*), todas foram corretamente notificadas como “*vanA* NEGATIVO (*vanA* NEGATIVE)”. Os resultados do estudo de reatividade analítica (inclusividade) são resumidos na Tabela 5; a informação sobre o genótipo foi fornecida pelos CDC.

**Tabela 5. Tabela de resumo dos resultados de reatividade analítica (inclusividade) do teste Xpert *vanA* num painel de amostras de enterococos fornecido pelos CDC**

ID da amostra	Microrganismo	Genótipo <sup>a</sup>	Resultado do Xpert <i>vanA</i>
---------------	---------------	-----------------------	--------------------------------

ID da amostra	Microrganismo	Genótipo <sup>a</sup>	Resultado do Xpert vanA
NJ-5	E. faecalis	Sensível	vanA NEGATIVO
VA32	E. casseliflavus	Sensível	vanA NEGATIVO
VS110	E. faecalis	Sensível	vanA NEGATIVO
VS119	E. faecalis	Sensível	vanA NEGATIVO
VS307	E. faecalis	Sensível	vanA NEGATIVO
VS314	E. faecalis	Sensível	vanA NEGATIVO
VS406	E. faecium	Sensível	vanA NEGATIVO
VS413	E. casseliflavus	Sensível	vanA NEGATIVO
VS414	E. casseliflavus	Sensível	vanA NEGATIVO
VS418	E. casseliflavus	Sensível	vanA NEGATIVO
VS517	E. faecalis	Sensível	vanA NEGATIVO
VS604	E. faecium	Sensível	vanA NEGATIVO
VS615	E. faecium	Sensível	vanA NEGATIVO
VS719	E. faecalis	Sensível	vanA NEGATIVO
VS804	E. casseliflavus	Sensível	vanA NEGATIVO
NJ-4	E. gallinarium	Sensível (vanC)	vanA NEGATIVO
VS106	E. gallinarium	Sensível (vanC)	vanA NEGATIVO
VS411	E. gallinarium	Sensível (vanC)	vanA NEGATIVO
VS608	E. gallinarium	Sensível (vanC)	vanA NEGATIVO
VS807	E. gallinarium	Sensível (vanC)	vanA NEGATIVO
E38-10	E. faecalis	vanB	vanA NEGATIVO
E6-1	E. faecium	vanB	vanA NEGATIVO
NJ-2	E. faecium	vanB	vanA NEGATIVO
VA16	E. faecalis	vanB	vanA NEGATIVO
VA36	E. faecium	vanB	vanA NEGATIVO
VA38	E. faecium	vanB	vanA NEGATIVO
VA63	E. faecalis	vanB	vanA NEGATIVO
VA8	E. faecium	vanB	vanA NEGATIVO
VA89	E. faecalis	vanB	vanA NEGATIVO
VS102	E. faecalis	vanB	vanA NEGATIVO
VS103	E. faecium	vanB	vanA NEGATIVO
VS111	E. faecalis	vanB	vanA NEGATIVO
VS112	E. faecium	vanB	vanA NEGATIVO
VS319	E. faecalis	vanB	vanA NEGATIVO
VS415	E. faecalis	vanB	vanA NEGATIVO
VS416	E. faecalis	vanB	vanA NEGATIVO



ID da amostra	Microrganismo	Genótipo <sup>a</sup>	Resultado do Xpert vanA
VS501	<i>E. faecalis</i>	vanB	vanA NEGATIVO
VS506	<i>E. faecium</i>	vanB	vanA NEGATIVO
VS514	<i>E. faecalis</i>	vanB	vanA NEGATIVO
VS605	<i>E. faecium</i>	vanB	vanA NEGATIVO
A256	<i>E. faecalis</i>	vanA	vanA POSITIVO
NJ-1	<i>E. faecium</i>	vanA	vanA POSITIVO
VA100 <sup>b</sup>	<i>E. faecium</i>	vanA	vanA NEGATIVO
VA29	<i>E. faecium</i>	vanA	vanA POSITIVO
VA6	<i>E. faecium</i>	vanA	vanA POSITIVO
VS105	<i>E. faecium</i>	vanA	vanA POSITIVO
VS318	<i>E. faecium</i>	vanA	vanA POSITIVO
VS420	<i>E. faecium</i>	vanA	vanA POSITIVO
VS511	<i>E. faecium</i>	vanA	vanA POSITIVO
VS611	<i>E. faecalis</i>	vanA	vanA POSITIVO

<sup>a</sup> A informação sobre o genótipo, apresentada nas colunas a cinzento, foi fornecida pelos CDC.

<sup>b</sup> A sequenciação confirmou que esta amostra é do subtipo *vanB*, e não *vanA* como determinado pelos CDC.

## 22 Sensibilidade analítica

Foram realizados estudos para determinar os intervalos de confiança de 95% para o limite de deteção (LoD) analítico de *Enterococcus faecium* (*vanA*) diluído numa matriz fecal de origem humana que pode ser detetado pelo teste Xpert vanA. A matriz fecal consistiu em fezes líquidas humanas autoclavadas (negativas para *vanA*) diluídas a 1:10 em tampão Tris. O LoD é definido como o número mais baixo de unidades formadoras de colónias (UFC) por zaragatoa que pode ser continuamente reproduzido e distinguido de amostras negativas com 95% de confiança.

O LoD analítico foi calculado utilizando 4 a 10 réplicas a cada diluição. O LoD foi confirmado através da análise de um total de 20 réplicas com concentração calculada para o LoD.

Nas condições deste estudo, o limite de deteção do teste Xpert vanA numa amostra de zaragatoa retal simulada é de 37 UFC.

## 23 Substâncias interferentes

Foram testadas 16 substâncias exógenas ocasionalmente utilizadas ou encontradas em fezes para avaliar a interferência com o teste Xpert vanA. As substâncias testadas encontram-se na Tabela 6. Nenhuma das 16 substâncias testadas demonstrou interferência com *vanA*. No entanto, o creme de hidrocortisona (hidrocortisona a 1%) e Pepto-Bismol® (subsalicilato de bismuto a 1%–5%) podem interferir ligeiramente com o teste Xpert vanA. Quando testados no estudo de interferência, o creme de hidrocortisona e Pepto-Bismol® resultaram em valores de Ct ligeiramente superiores ao controlo tampão.

**Tabela 6. Substâncias testadas e que não mostraram interferência com *vanA***

Substância	Substância
------------	------------

Substância	Substância
Sangue total Hospital universitário Karolinska	Vaselina Unilever
Mucina (porcina) Sigma	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Kaopectate® Chattem	Preparation H® em toalhetes individuais Wyeth Consumer Healthcare
Imodium® McNeil-PPC	Vancomicina Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazol Actavis
Gorduras fecais Hospital universitário Karolinska	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC	Sulfato de bário E-Z-HDTM de elevada densidade para suspensão E-Z-EM Canada
<sup>a</sup> Creme de hidrocortisona Longs Drugs	<sup>a</sup> Pepto-Bismol® Procter & Gamble

<sup>a</sup> Quando testados no estudo de interferência, os resultados apresentaram valores de Ct ligeiramente superiores ao controlo tampão.

## 24 Reprodutibilidade

Foi testado um painel de quatro amostras com concentrações variáveis de *vanA* em 10 dias diferentes, por dois operadores diferentes, em cada um dos três locais (4 amostras x 2 operadores/dia x 10 dias x 3 locais). Foi utilizado um lote do teste Xpert *vanA* em cada um dos 3 locais de teste. Os testes Xpert *vanA* foram realizados de acordo com o procedimento do teste Xpert *vanA*. Os resultados são apresentados resumidamente nas Tabela 7 e Tabela 8.

**Tabela 7. Sumário dos resultados de reprodutibilidade (todos)<sup>a</sup>**

ID da amostra	% de concordância <sup>a</sup>			% de concordância total por amostra
	Centro 1	Centro 2	Centro 3	
Neg	100% (20/20)	90% (18/20)	100% (20/20)	96,7% (58/60)
<i>vanA</i> Neg. elevado	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	98,3% (59/60)
<i>vanA</i> Pos. baixo	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)

% de concordância <sup>a</sup>				
ID da amostra	Centro 1	Centro 2	Centro 3	% de concordância total por amostra
vanA Pos. moderado	100% (20/20)	95% (19/20)	100% (20/20)	98,3% (59/60)
% de concordância total por local	100% (80/80)	96,3% (77/80)	98,8% (79/80)	98,3% (236/240)

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

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

Bg			
Nível	Média aritmética	Desv. pad.	CV
vanA neg. elevado	32,88	0,60	1,83%
vanA pos. baixo	32,88	0,77	2,34%
vanA pos. mod.	32,80	0,78	2,38%
Neg	33,15	0,65	1,96%
vanA <sup>a</sup>			
Nível	Média aritmética	Desv. pad.	CV
vanA pos. baixo	33,76	1,00	2,95%
vanA pos. mod.	30,35	1,33	4,40%

<sup>a</sup> Cutoff Ct para vanA=40

## 25 Bibliografia

1. Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA; Rood JI (editores). Gram-Positive Pathogens. ASM Press, Washington D.C. 2000.
2. deBruin MA, Riley LW. Does vancomycin prescribing intervention affect vancomycin-resistant enterococcus infection and colonization in hospitals? A systematic review. BMC Infect Dis. 2007;7:24.
3. Calderwood MS, Mauer A, Tolentino J, et al. Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci among patients on an adult stem cell transplant unit: observations from an active surveillance program. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008;29:1019-1025.
4. Hidron A, Edwards JR, Patel J, et al. 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 Epidemic. 2008;29:996-1011.
5. Cetinkaya Y, Falk P e Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Micro Rev. 2000;13:686-707.
6. Courvalin P. Vancomycin resistance in Gram-positive cocci. Clin Infect Dis. 2006;42 Supply 1: S25-34.
7. Sievert DM, Rudrik JT, Patel JB, et al. Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus in the United States, 2002-2006. Clin Infect Dis. 2008;46:668-674.
8. Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin-resistant enterococci: Colonization, infection, detection and treatment. Mayo Clin Proc. 2006;81:529-536.
9. Ballard SA, Pertile KK, Lim M, et al. Molecular characterization of vanB elements in naturally occurring gut anaerobes. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(5):1688-1694.

10. Petrich AK, Luinstra KE, Groves D, et al. Direct detection of *vanA* and *vanB* genes in clinical specimens for rapid identification of VRE using multiplex PCR. *Mol Cellular Probes*. 1999;13:275-281.
11. Domingo MC, Huletsky A, Bernal R, et al. Characterization of a Tn5382-like transposon containing the *vanB2* gene cluster in a *Clostridium* strain isolated from human faeces. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55:466-474.
12. Domingo MC, Huletsky A, Giroux K, et al. High prevalence of glycopeptides resistance genes *vanB*, *vanD*, and *vanG* not associated with enterococci in human fecal flora. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(11):4784-4786.
13. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR e Grayson ML. Comparison of three PCR primer sets for identification of *vanB* gene carriage in feces and correlation with carriage of vancomycin-resistant enterococci: Interference by *vanB* containing anaerobic bacilli. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(1):77-81.
14. Sloan LM, Uhl JR, Vetter EA, et al. Comparison of the Roche LightCycler *vanA/vanB* Detection Assay and culture for detection of vancomycin-resistant enterococci from perianal swabs. *J Clin Micro*. 2004;42:2636-2643.
15. Rice LB. Antibiotics and gastrointestinal colonization by vancomycin-resistant enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24:804-814.
16. Milstone AM, Song X, Beers C, et al. Unrecognized burden of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus* carriage in pediatric intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29:1174-1176.
17. Huang SS, Rifas-Shiman SL, Pottinger JM, et al. Improving the assessment of vancomycin-resistant enterococci by routine screening. *J Infect Dis*. 2007;195:339-346.
18. Perencevich EN, Fisman DN, Lipsitch M, et al. Projected benefits of active surveillance for vancomycin-resistant enterococci in intensive care units. *CID*. 2004;38:1108-1115.
19. 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.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar a última edição).
21. 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, Diretivas 67/548/CEE e 1999/CE, (e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006)
22. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

## 26 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

## 27 Assistência técnica

Before contacting Cepheid Technical Support, collect the following information:

- Product name
- Lot number
- Serial number of the instrument
- Error messages (if any)
- Software version and, if applicable, Computer Service Tag Number

### 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](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

## 28 Tabela de símbolos

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

Símbolo	Significado
	Atenção



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



## 29 Histórico de revisões

**Descrição das Alterações:** 300-9105-PT, Rev. D a E

**Finalidade:** Correções

Secção	Descrição da alteração
Colheita, transporte e conservação de amostras	Revisão de alterações não intencionais ao tipo de amostra e armazenamento de amostras.
Valores esperados	Secção Valores esperados devolvida às Instruções de Utilização.