

Xpert® MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-10

For Information Only - Not A Controlled Copy

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

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH 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 © 2019. 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 compra deste produto inclui uma licença limitada e não transferível no âmbito da patente dos EUA n.º 7,449,289, pertencente à GeneOhm Sciences Canada, Inc (uma subsidiária da Becton, Dickinson and Company), para utilizar este produto no diagnóstico in vitro (IVD) de material humano com um instrumento GeneXpert[®]. Nenhum direito é atribuído, expressamente, por implicação ou preclusão, no âmbito da patente dos EUA n.º 7,449,289, para a utilização deste produto com qualquer outra finalidade.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM 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 © 2019. Todos os direitos reservados.



Cepheid

904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089-1189

Tel: +1 408 541 4191

Fax: +1 408 541 4192

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1. Nome proprietário

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2. Nome comum ou usual

Ensaio Xpert MRSA/SA SSTI

3. Aplicação

O Xpert MRSA/SA Assay para infecções dermatológicas e dos tecidos moles (Xpert MRSA/SA SSTI Assay) da Cepheid, realizado no GeneXpert[®] Dx System, é um teste qualitativo de diagnóstico *in vitro* destinado à detecção de *Staphylococcus aureus* (SA) e de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) a partir de zaragatoas de infecções dermatológicas e dos tecidos moles. O teste utiliza a reacção em cadeia da polimerase (PCR) automática em tempo real para detectar o ADN de MRSA/SA. O ensaio Xpert MRSA/SA SSTI é indicado para utilização em conjunção com outros testes laboratoriais, como a cultura microbiológica, e com dados clínicos de que o médico disponha como adjuvante na detecção de MRSA/SA a partir de infecções dermatológicas e dos tecidos moles. O ensaio Xpert MRSA/SA SSTI não se destina à monitorização do tratamento de infecções por MRSA/SA. São necessárias culturas concomitantes de SA e MRSA para recuperar organismos para testes de susceptibilidade ou tipagem epidemiológica. Numa cultura mista que contenha MRSA/SA e outros organismos (por ex., bacilos Gram-negativos, leveduras), os resultados podem ser falsos negativos ou variáveis, dependendo da concentração de MRSA/SA existente, particularmente se esta estiver próxima do limite de detecção (LoD) do ensaio.

4. Resumo e explicação

O *Staphylococcus aureus* (SA) é um agente patogénico humano oportunista, bem documentado, e um importante agente patogénico nosocomial que origina diversas doenças. Algumas das doenças envolvem infecções dermatológicas e dos tecidos moles, incluindo carbúnculo e furúnculos, e infecções de feridas pós-operatórias em vários locais. Como agente patogénico nosocomial, o *S. aureus* tem sido uma importante causa de morbilidade e mortalidade. As infecções por *S. aureus* são frequentemente agudas e piogénicas e, se não forem tratadas, podem alastrar-se ao tecido circundante ou via bacteriemia a locais metastáticos (envolvendo outros órgãos). Algumas das infecções mais graves produzidas por *S. aureus* são: bacteriemia, pneumonia, osteomielite, endocardite aguda, síndrome de choque tóxico, intoxicação alimentar, miocardite, pericardite, cerebrite, meningite, corioamnionite, síndrome de pele escaldada e abscessos do músculo, do tracto urogenital, do sistema nervoso central e de vários órgãos intra-abdominais.¹

No início da década de 1950, a aquisição e propagação de plasmídeos produtores de beta-lactamase prejudicou a eficácia da penicilina no tratamento de infecções por *S. aureus*. Em 1959, foi introduzida a meticilina, uma penicilina sintética. No entanto, por volta de 1960, foram identificadas estirpes de *S. aureus* resistentes à meticilina. Determinou-se que isto resultou da aquisição do gene *mecA* pelo *S. aureus*. Actualmente, nos EUA, o MRSA é responsável por aproximadamente 25% das infecções nosocomiais e os relatos de MRSA adquirido em comunidades estão a aumentar, resultando em morbilidade e mortalidade significativas. Foi relatada uma mortalidade atribuível de 33% e de 16% para bacteriemia por MRSA e *S. aureus* (SA) sensível à meticilina, respectivamente. Também há preocupações crescentes com o custo das infecções por MRSA. Na tentativa de limitar a disseminação destas infecções, estão a ser desenvolvidas e implementadas estratégias e políticas de controlo em estabelecimentos de saúde. O controlo do MRSA é um dos principais objectivos da maioria dos programas de controlo de infecções em hospitais. Actualmente, o método padrão para detecção de MRSA e SA é a cultura, que é muito trabalhosa e pode exigir vários dias para gerar um resultado definitivo.^{2,3,4,5,6,7}

5. Princípio do procedimento

O GeneXpert Dx System automatiza e integra a purificação de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção de sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR em tempo real. O sistema consiste num instrumento, computador pessoal e software pré-carregado para realizar testes e ver os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes da PCR e onde decorre esse processo. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para uma descrição completa do sistema, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual* (Manual do operador do GeneXpert Dx System).

O ensaio Xpert MRSA/SA SSTI inclui reagentes para a detecção de MRSA e SA, bem como um controlo de processamento da amostra (SPC – Sample Processing Control) para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e para monitorizar a presença de inibidor(es) na reacção PCR. O SPC também assegura que as condições da reacção PCR (temperatura e tempo) são apropriadas para a reacção 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.

Os iniciadores e as sondas no ensaio Xpert MRSA/SA SSTI detectam sequências exclusivas para a proteína estafilocócica A (*spa*), o gene de resistência à meticilina (*mecA*) e a cassette cromossómica estafilocócica *mec* (*SCCmec*) inserida no local cromossómico *attB* do SA.

6. Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



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

Cartuchos do Xpert MRSA/SA SSTI Assay com tubos de reacção integrados	10
• Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (secagem por congelamento)	1 por cartucho
• Reagente 1	3,0 ml por cartucho
• Reagente 2 (hidróxido de sódio)	3,0 ml por cartucho
Reagente de eluição do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI (tiocianato de guanidina)	10 x 2,0 ml
CD	1 por kit
• Ficheiro de definição do ensaio (ADF – assay definition file)	
• 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 ou www.cepheidinternational.com, no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

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

6.2 Conservação e manuseamento



- conserve os cartuchos e reagentes do Xpert MRSA/SA SSTI Assay entre 2 e 28 °C.
- Não utilize reagentes ou cartuchos fora do prazo da validade.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilize nenhuns reagentes que estejam turvos ou descolorados.

7. Materiais disponíveis mas não fornecidos

- GeneXpert Dx System (o número de catálogo varia consoante a configuração): instrumento GeneXpert, computador, lápis óptico para leitura de códigos de barras e manual do operador
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a Assistência Técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Dispositivo de colheita de amostras da Cepheid (900-0370) ou dispositivo equivalente da Copan
- Agitador de vórtice
- Pipetas de transferência descartáveis
- Gaze estéril

8. Materials Available but Not Provided

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


9. Advertências e precauções



- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas deverão ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention⁸ e no Clinical and Laboratory Standards Institute dos EUA.⁹
- Numa cultura mista contendo MRSA/SA e outros organismos (por ex., bacilos Gram-negativos, leveduras), os resultados podem ser falsos negativos ou variáveis, dependendo da concentração de MRSA/SA existente, particularmente se esta estiver próxima do LoD do ensaio.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com químicos e manusear amostras biológicas.
- O ensaio Xpert MRSA/SA SSTI consegue detectar ADN de MRSA e/ou SA de organismos não viáveis. A probabilidade desta ocorrência aumenta no caso de doentes medicados com antibióticos.
- O ensaio Xpert MRSA/SA SSTI não fornece resultados de testes de susceptibilidade antimicrobiana. É necessário tempo adicional para cultura e para realizar testes de susceptibilidade.
- Não substitua os reagentes do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI, excepto ao adicionar a amostra e os reagentes ou ao repetir um teste.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou sido agitado depois de ter adicionado a amostra e os reagentes.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reacção danificado.
- ② • Cada cartucho de utilização única do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as directrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).
- Conserve o kit do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI entre 2 e 28 °C.



10. Perigos químicos^{17, 18}

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

Podem ser colhidas amostras em zaragatoas de infeções dermatológicas e dos tecidos moles com o dispositivo de colheita de amostras da Cepheid, seguindo os procedimentos padrão da instituição do utilizador. As amostras em zaragatoas são colocadas de novo no tubo de transporte de plástico (recomenda-se meio líquido de Stuart, dispositivo de colheita de amostras da Cepheid ou dispositivo equivalente da Copan), conservadas à temperatura ambiente e enviadas para a área de teste GeneXpert para processamento no dia seguinte. A restante zaragatoa não testada para cultura microbiológica deve ser colocada em sistemas de transporte adequados e a cultura deve ser efectuada dentro de 4 dias. Se não for enviada até ao dia seguinte, a amostra deve ser transportada em gelo. Em alternativa, as zaragatoas podem ser armazenadas entre 2 e 8 °C para realização de testes dentro de até 5 dias.



12. Cultura microbiológica

Em relação aos métodos de cultura de SSTI, siga os actuais procedimentos operacionais padrão para laboratório. Para cultura, as restantes amostras de zaragatoa não testadas deverão ser colocadas em sistemas de transporte adequados e a cultura deverá ser efectuada dentro de 4 dias.

13. Procedimento

13.1 Preparação do cartucho

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

Para adicionar a amostra ao cartucho:

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

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

3. Insira a zaragatoa no tubo que contém o reagente de eluição e quebre a zaragatoa.
4. Feche a tampa do frasco do reagente de eluição e coloque no agitador de vórtice na velocidade máxima durante 10 segundos.
5. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência estéril, transfira todo o conteúdo do reagente de eluição para a câmara de amostra do cartucho do Xpert MRSA/SA SSTI Assay.
6. Feche a tampa do cartucho.

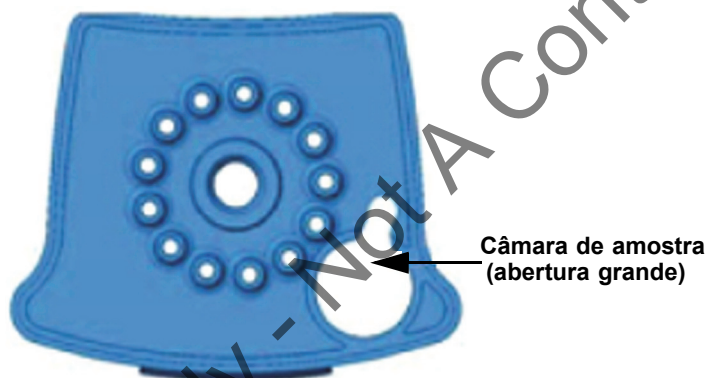


Figura 1. Cartucho do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI (vista de cima)

13.2 Iniciar o teste

Importante Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI foi importado para o software.

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

1. Ligue o instrumento GeneXpert Dx e depois ligue o computador.
2. Inicie sessão no software do GeneXpert Dx System utilizando o seu nome de utilizador e senha.
3. Na janela do GeneXpert System, clique em **Criar teste (Create Test)**. Aparece a janela Criar teste (Create Test).
4. Digitalize ou introduza a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do paciente (Patient ID) correcta. A ID do paciente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela Ver resultados (View Results).
5. Realize a leitura da ID da amostra (Sample ID) ou digite-a. Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que a ID da amostra (Sample ID) é correctamente digitada. A ID da amostra (Sample ID) está associada aos resultados do teste e é apresentada na janela Ver resultados (View Results).
6. Realize a leitura do código de barras do cartucho do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. Utilizando as informações do código de barras, o software vai preencher automaticamente as caixas dos campos seguintes: Seleccionar ensaio (Select Assay), ID do lote de reagente (Reagent Lot ID), N.º série do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date)
7. 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. O teste inicia-se e a luz verde pára de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
10. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho.
11. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos recipientes apropriados para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

13.3 Visualização e 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

CONTROL

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (SPC ou BG3 no ecrã de visualização de resultados para o utilizador administrador) e um controlo de verificação da sonda (PCC).

- **Controlo de processamento da amostra (SPC – Sample Processing Control)** — Assegura que a amostra foi processada correctamente. O SPC contém esporos de *Bacillus globigii*, sob a forma de um bolo seco de esporos que está incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado da amostra do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. O SPC verifica se ocorreu lise do *Staphylococcus aureus*, se os organismos estão presentes e se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo detecta a inibição do ensaio de PCR em tempo real associada à amostra, assegura que as condições da reacção PCR (temperatura e tempo) são apropriadas para a reacção de amplificação e que os reagentes de PCR estão funcionais. O SPC deve ser positivo numa amostra negativa e pode ser negativo ou positivo numa amostra positiva. O SPC passa se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC – Probe Check Control)** — Antes do início da reacção PCR, o GeneXpert Dx System mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reacção, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda passa se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

14.2 Controlos externos

Podem ser utilizados KWIK-STIK (MicroBiologics, n.º de catálogo 0158MRSA [SCC*mec* tipo II] e n.º de catálogo 0360MSSA como controlos positivos e n.º 0371MSSE como controlo negativo) para formação, testes de proficiência e CQ externo do GeneXpert Dx System. Estirpes de MRSA representando outros tipos de SCC*mec*, se disponíveis, poderão ser utilizadas como controlos externos positivos adicionais para monitorizar os iniciadores e as sondas do ensaio não directamente controlados no ensaio. Podem ser utilizados controlos externos, em conformidade com as instituições de acreditação e os regulamentos governamentais, consoante aplicável. Siga o procedimento de controlo externo da MicroBiologics descrito abaixo:

1. Rasgue a bolsa pelo entalhe e retire o KWIK-STIK.
2. Aperte o fundo da ampola na tampa para libertar o fluido hidratante.
3. Segure verticalmente e bata levemente com o dedo para facilitar o fluxo de fluido através da haste para o fundo da unidade que contém a microesfera.
4. Para facilitar a dissolução da microesfera de células liofilizadas, esmague a microesfera e aperte suavemente a câmara inferior.
5. Desmonte o KWIK-STIK para libertar a zaragatoa e insira-a no tubo que contém o reagente de eluição (enrosque a tampa).
6. A zaragatoa KWIK-STIK está agora pronta para o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI.
7. Se o desempenho do CQ externo não for o esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a Cepheid para obter assistência.

São mostrados exemplos de resultados do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI na Figura 2 a Figura 4.

15. Interpretação dos resultados

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

Tabela 1. Resultados e interpretação do ensaio Xpert MRSA/SA

Resultado	Interpretação
MRSA POSITIVO/ SA POSITIVO (MRSA POSITIVE/ SA POSITIVE) Figura 2	<p>O Xpert MRSA/SA SSTI Assay consegue detectar ADN de MRSA e/ou SA de organismos não viáveis. Sequências de ADN-alvo de MRSA detectadas/Sequência de ADN-alvo de SA detectada.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE) — Todos os alvos de MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>) têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. SPC — NA (não aplicável) (SPC — NA [not applicable]); o SPC é ignorado porque a amplificação do MRSA poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MRSA NEGATIVO/ SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE/ SA POSITIVE)	<p>O ensaio Xpert MRSA/SA consegue detectar ADN de MRSA e/ou SA de organismos não viáveis. Sequências de ADN-alvo de MRSA não detectadas/Sequência de ADN-alvo de SA detectada.</p> <ul style="list-style-type: none"> SA POSITIVO (SA POSITIVE) — O alvo de SA (<i>spa</i>) tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. ADN-alvo para o <i>SCCmec</i> não é detectado, ADN-alvo para o <i>mecA</i> pode ou não ser detectado, ou ADN-alvo para o <i>SCCmec</i> é detectado e ADN-alvo para o <i>mecA</i> não é detectado (“cassete vazia”). SPC — NA (não aplicável) (SPC — NA [not applicable]); o SPC é ignorado porque a amplificação do SA poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. <p>Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de SA.</p>
MRSA NEGATIVO/ SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE/ SA NEGATIVE) Figura 3	<p>A sequência de ADN-alvo do <i>Staphylococcus aureus</i> não foi detectada. O SPC preenche os critérios de aceitação.</p> <ul style="list-style-type: none"> NEGATIVO (NEGATIVE) — O ADN-alvo de <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>spa</i>) não foi detectado. O ADN-alvo para o <i>mecA</i> pode ou não ser detectado, ou o ADN-alvo para o <i>SCCmec</i> pode ou não ser detectado. SPC — APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. <p>Um falso negativo para o MRSA (um resultado MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO [MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE] em vez de MRSA POSITIVO; SA POSITIVO [MRSA POSITIVE; SA POSITIVE]) poderá ser obtido se tanto MRSA como SA estiverem presentes na amostra numa razão MRSA:SA de 1:1x10⁶ ou superior.</p> <p>Nos estudos clínicos, 5 das 246 culturas positivas para MRSA tinham infecções mistas de MRSA e SA. O Xpert MRSA/SA SSTI identificou 3 das 5 infecções mistas como MRSA positivo (MRSA-positivo) e 2 das 5 como SA positivo/MRSA negativo (SA-positivo/MRSA-negativo).</p>

Tabela 1. Resultados e interpretação do ensaio Xpert MRSA/SA (Continuação)

Resultado	Interpretação
INVÁLIDO (INVALID) Figura 4	<p>A presença ou ausência de sequências de ADN-alvo de MRSA/SA não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção abaixo. O SPC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida</p> <ul style="list-style-type: none"> INVÁLIDO (INVALID) — A presença ou ausência de ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> não pode ser determinada. SPC — FALHOU (SPC — FAIL) — O resultado alvo do SPC é negativo e o Ct (limiar de ciclo) do SPC não está dentro do intervalo válido e o endpoint (ponto final) é inferior à definição mínima. Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
ERRO (ERROR)	<p>A presença ou ausência de sequências de ADN-alvo de MRSA/SA não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção abaixo. O controlo de verificação da sonda falhou, provavelmente devido a um tubo de reacção que não foi enchido adequadamente, a um problema de integridade da sonda ou porque os limites de pressão máxima foram excedidos.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA — SEM RESULTADO (MRSA — NO RESULT) SA — SEM RESULTADO (SA — NO RESULT) SPC — SEM RESULTADO (SPC — NO RESULT) Verificação da sonda — FALHOU (Probe Check — FAIL)*; um ou mais dos resultados de verificação da sonda falharam. <p>* Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>A presença ou ausência de sequências de ADN-alvo de MRSA/SA não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção abaixo. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste. Isto pode ocorrer, por exemplo, se o operador parou um teste que estava em curso.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA — SEM RESULTADO (MRSA — NO RESULT) SA — SEM RESULTADO (SA — NO RESULT) SPC — SEM RESULTADO (SPC — NO RESULT) Verificação da sonda — NA (não aplicável) (Probe Check — NA [not applicable])

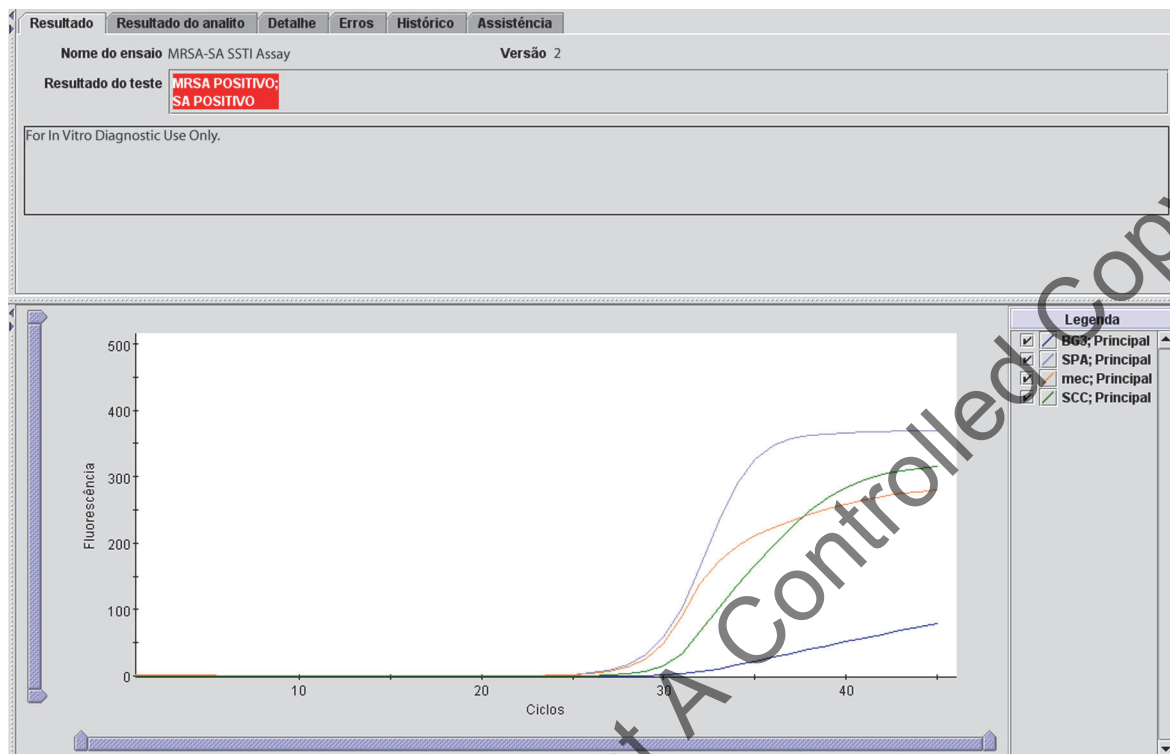


Figura 2. Exemplo de um resultado positivo para MRSA



Figura 3. Exemplo de um resultado negativo

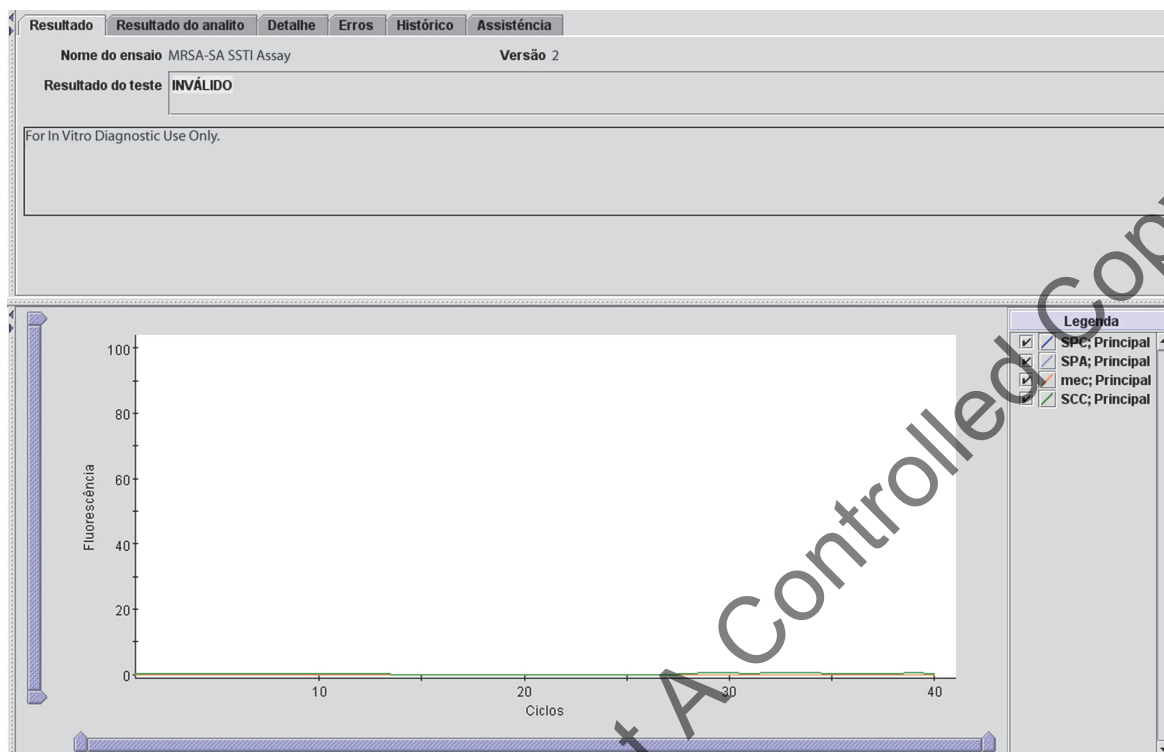


Figura 4. Exemplo de um resultado inválido

16. Motivos para repetir um ensaio

Repita o teste utilizando um novo cartucho (não reutilize o cartucho) e novos reagentes. Realize o procedimento de repetição do teste dentro de 3 horas da obtenção do resultado indeterminado.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o controlo SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o controlo de verificação da sonda falhou e que o ensaio foi abortado, possivelmente devido ao tubo de reacção não ter sido adequadamente enchido, à detecção 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 recolhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava a decorrer.
- Se o desempenho do CQ externo não for o esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a Cepheid para assistência.

16.1 Procedimento de repetição do teste

Para realizar a repetição do teste:

Se a repetição do teste se realizar dentro de 3 horas da obtenção de um resultado indeterminado*:

1. Transfira os restantes conteúdos da câmara de amostra para um novo reagente de eluição utilizando uma pipeta de transferência descartável.
2. Coloque no agitador de vórtice e adicione todo o conteúdo do reagente de eluição à câmara de amostra do novo cartucho do MRSA/SA SSTI Assay.
3. Feche a tampa e inicie o novo teste.

*Se a repetição do teste não puder ser realizada dentro de 3 horas, utilize uma amostra nova.

17. Limitações

- O desempenho do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste. Os resultados do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI deverão ser interpretados em conjunção com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- O ensaio Xpert MRSA/SA SSTI consegue detectar ADN de MRSA e/ou SA de organismos não viáveis. A probabilidade desta ocorrência aumenta no caso de doentes medicados com antibióticos. No estudo clínico central, a taxa de falsos positivos (em relação à cultura) na detecção de SA em doentes a utilizarem antibióticos 3 semanas antes da realização do teste Xpert MRSA/SA foi de 13,8%. A taxa de falsos positivos (em relação à cultura) na detecção de MRSA em doentes a utilizarem antibióticos 3 semanas antes da realização do teste Xpert MRSA/SA foi de 9,5%.
- Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de MRSA ou SA.
- Os testes com o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI deverão ser utilizados como adjuvantes a outros métodos disponíveis.
- Resultados de teste incorrectos poderão ser originados por colheita de amostras inadequada, não seguimento dos procedimentos recomendados para colheita, manuseamento e conservação de amostras, erro técnico, troca de amostras ou porque o número de organismos da amostra é demasiado baixo para ser detectado pelo teste. É necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto para evitar resultados incorrectos.
- Dado que a detecção de MRSA e SA depende do número de organismos presentes na amostra, resultados fiáveis dependem da colheita, manuseamento e conservação de amostras adequados.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador (primer) ou da sonda poderão afectar a detecção de variantes de MRSA novas ou desconhecidas, originando um resultado falso negativo.
- Em amostras contendo MRSA e SA, o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI pode não detectar os organismos de SA resistentes à meticilina. (No ensaio clínico central, o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI não detectou 2 de 5 amostras de cultura positivas para MRSA em situações com infecções mistas de MRSA/SA documentadas.)
- Numa cultura mista, o LoD analítico do MRSA é variável quando estão presentes concentrações de SA extremamente elevadas. Foi observada interferência do SA numa razão MRSA:SA de 1:1x10⁶. Nos estudos clínicos, 5 das 246 culturas positivas para MRSA tinham infecções mistas de MRSA e SA. O Xpert MRSA/SA SSTI identificou 3 das 5 infecções mistas como MRSA positivo e 2 das 5 como SA positivo/MRSA negativo.
- Foi observada inibição do ensaio MRSA/SA SSTI com as seguintes substâncias: StaphA⁺Septic (5% p/v), hidrocortisona (5% p/v) e desinfetante antibacteriano para as mãos (5% p/v).
- Não podem ser utilizadas amostras contendo mercurocromo, devido à sua natureza fluorescente.
- O Xpert MRSA/SA SSTI Assay gera um resultado falso positivo para MRSA ao testar uma amostra de SSTI com infecção mista, contendo tanto *Staphylococcus* resistente à meticilina coagulase-negativo (MRCNS) como *Staphylococcus aureus* (SA) de cassette vazia sensível à meticilina.

18. Substâncias interferentes

No estudo de investigação para o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI, foi observado sangue em 428 das 848 amostras e outras substâncias não específicas em 404 que poderiam potencialmente interferir com o ensaio (de notar que algumas amostras continham mais do que um tipo de potencial contaminante). Os testes exactos de Fisher realizados nos dados gerados a partir de zaragoas com e sem estas potenciais substâncias interferentes demonstraram que a sua presença não afectou o desempenho do ensaio.

Num estudo não clínico, potenciais substâncias interferentes passíveis de estarem presentes em amostras clínicas de infeções dermatológicas e dos tecidos moles foram avaliadas directamente em relação ao desempenho do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. As substâncias potencialmente interferentes em infeções dermatológicas e dos tecidos moles podem incluir, mas não se limitam a: sangue, pus, plasma, pomadas tópicas (com antibiótico/anti-sépticas/analgésicas), agentes de desbridamento e tinturas. As substâncias testadas estão discriminadas na Tabela 2 e Tabela 3, mostrando-se os ingredientes activos e as concentrações testadas. Foi observada inibição do ensaio MRSA/SA SSTI com as seguintes substâncias: StaphA⁺Septic (5% p/v), hidrocortisona (5% p/v) e desinfectante antibacteriano para as mãos (5% p/v).

Não podem ser utilizadas amostras contendo mercurocromo, devido à sua natureza fluorescente.

19.

Tabela 2. Potenciais substâncias de SSTI interferentes testadas

Substância	Ingrediente activo	% testada
Tampão TET (controlo)	Controlo	Controlo
Camada leucoplaquetária (substituição de ferida)	Leucócitos (1,5e9/ml)	50% (v/v)
Sangue total (sem MRSA/SA)	N/A	50% (v/v)
Plasma	N/A	50% (v/v)
Neosporin	400 unidades de bacitracina 5000 unidades de polimixina B 3,5 mg de neomicina	1% e 5% (p/v)
StaphA ⁺ Septic	Cloreto de benzetónio a 0,2%, cloridrato de lidocaína a 2,5%	1% e 5% (p/v)
Hidrocortisona	Hidrocortisona a 1%	1% e 5% (p/v)
Boil-Ease	Benzocaína a 20%	1% e 5% (p/v)
Tintura de Iodo	Iodo a 2%	50% (v/v)

Tabela 3. Potenciais substâncias de SSTI interferentes testadas

Substância	Ingrediente activo	% testada
Tampão TET (controlo)	Controlo	Controlo
Mupirocina	Cloreto de benzetónio a 0,2% e cloridrato de lidocaína a 2,5%	5% (p/v)
Sangue total (sem MRSA/SA)	N/A	50% (v/v)
Soro fisiológico	Cloreto de sódio a 0,65%	50% (v/v)
Desinfectante antibacteriano para as mãos	Álcool etílico a 62%	1% e 5% (p/v)
Álcool isopropílico a 70%	Álcool isopropílico a 70%	50% (v/v)

20. Valores esperados

Foi incluído no estudo clínico do Xpert MRSA/SA SSTI um total de 848 amostras de SSTI de quatro hospitais de grande dimensão dos EUA. O número e a percentagem de casos positivos pelo método de cultura de referência, calculados por grupo etário, são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Prevalência observada de MRSA e SA por cultura

Grupo etário	N total	MRSA por cultura		SA por cultura	
		Número de positivos	Prevalência observada	Número de positivos	Prevalência observada
Idade inferior a 3 anos	34	11	32,4%	21	61,8%
Idade entre 3 e 18 anos	100	25	25,0%	55	55,0%
Idade entre 19 e 65 anos	614	188	30,6%	300	48,9%
Idade superior a 66 anos	100	22	22,0%	35	35,0%

21. Características do desempenho

21.1 Desempenho clínico

As características de desempenho do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI foram determinadas num estudo multicêntrico de investigação prospectiva em quatro instituições dos EUA, comparando o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI com a cultura de referência. Os sujeitos incluíram indivíduos cujos cuidados de rotina exigiam a colheita com zaragatoa da infecção dermatológica e dos tecidos moles do doente para cultura.

Foram recolhidas zaragatoas duplas de cada sujeito. Uma zaragatoa foi testada com o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI no centro de inscrição e a outra zaragatoa foi testada com o método padrão do local, sendo a amostra restante enviada para o laboratório central para teste de cultura de referência.

No laboratório central, a amostra foi enriquecida durante uma noite em meio líquido de tripticase de soja com NaCl a 6,5%. Foi então feita a cultura em riscas do meio líquido de tripticase de soja em placas com cefoxitina (para MRSA) e sem cefoxitina (para SA). Se as placas de SA e/ou MRSA apresentassem presumivelmente colónias de *S. aureus*, era realizada a subcultura das colónias numa placa de ágar sangue. A confirmação de colónias presumivelmente positivas foi realizada com catalase, coagulase em tubo e coloração de Gram. A resistência à oxacilina mediada pelo *mecA* foi testada através de teste de difusão em disco, utilizando um disco de 30 µg de cefoxitina e cutoff de 21/22 mm. Se as culturas das placas de SA e MRSA fossem negativas, era realizada a subcultura do meio líquido de tripticase de soja arquivado com NaCl a 6,5% em ágar sangue, seguida por análise para SA/MRSA, consoante previamente descrito.

O desempenho do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI foi calculado em relação aos resultados da cultura de referência.

21.2 Resultados totais

Foi testado um total de 848 amostras para MRSA e SA com o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI e cultura.

Entre os 848 casos no conjunto de dados elegíveis, foi relatada a utilização de antibióticos nas 3 semanas que antecedem a recolha da amostra para 207 sujeitos, tendo a não utilização de antibióticos sido confirmada para 441 sujeitos; desconhece-se o estado da toma de antibióticos em 200 casos. Foi observada uma diminuição estatisticamente significativa da taxa de positividade de SA em relação aos resultados da cultura quando foram utilizados antibióticos ($p = 0,007$); este fenómeno também foi relatado na literatura.^{10, 11, 12, 13, 14} A taxa de positividade de MRSA em relação à cultura também diminuiu, embora em menor extensão ($p = 0,022$). A diminuição na positividade não foi observada com o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI quando eram utilizados antibióticos, nem foi observada nenhuma inibição do ensaio na presença de antibióticos tópicos (consulte Substâncias interferentes). A diminuição das taxas de positividade para MRSA e SA na presença de antibióticos originou as taxas de falsos positivos superiores às esperadas observadas com o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI.

Cinco (5) das 246 culturas positivas para MRSA tinham infecções mistas por MRSA e SA. O Xpert MRSA/SA SSTI identificou 3 das 5 infecções mistas como MRSA positivo (MRSA - positive) e 2 das 5 como SA positivo/MRSA negativo (SA positive/MRSA negative).

O desempenho do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI é apresentado resumidamente na Tabela 5 a Tabela 7.

Tabela 5. Desempenho do MRSA/SA em sujeitos sem utilização de antibióticos (dentro de 3 semanas antes da colheita de amostras) vs. cultura de referência

		Cultura			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Sem crescimento	Total
Xpert	MRSA+	137 ¹	2	6	145
	SA+/MRSA-	3 ²	79	16	98
	SA-	6	4	188	198
	Total	146	85	210	441

¹ 1 das 137 era infecção mista por MRSA e SA.

² 2 das 3 eram infecções mistas por MRSA e SA.

Concordância percentual positiva (MRSA+) = 93,8; Intervalo de confiança de 95% = 88,6-97,1

Concordância percentual negativa (MRSA+) = 97,3; Intervalo de confiança de 95% = 94,7-98,8

Concordância percentual positiva (SA+/MRSA+) = 95,7; Intervalo de confiança de 95% = 92,2-97,9

Concordância percentual negativa (SA+/MRSA+) = 89,5; Intervalo de confiança de 95% = 84,6-93,3

Entre os sujeitos sem utilização de antibióticos nas 3 semanas que antecedem a colheita de amostras, o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI identificou 93,8% das amostras como positivas para MRSA e 97,3% das amostras como negativas para MRSA, em relação ao método de cultura de referência, e 95,7% das amostras como positivas para SA e 89,5% das amostras como negativas para SA, em relação ao método de cultura de referência.

Entre estes sujeitos sem utilização de antibióticos, houve 96,8% (427/441) de êxito à primeira tentativa com o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. Com as restantes 14, obtiveram-se resultados indeterminados na primeira tentativa (6 **INVÁLIDO (INVALID)**, 7 **ERRO (ERROR)** e 1 **SEM RESULTADO (NO RESULT)**). Das 14 amostras com resultados indeterminados à primeira tentativa, todas apresentaram um resultado à segunda tentativa.

Tabela 6. Desempenho do MRSA/SA em sujeitos com utilização de antibióticos desconhecida (nas 3 semanas que antecedem a colheita de amostras) vs. cultura de referência

		Cultura			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Sem crescimento	Total
Xpert	MRSA+	47 ¹	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Total	50	47	103	200

¹ 2 das 47 eram infecções mistas por MRSA e SA.

Concordância percentual positiva (MRSA+) = 94,0; Intervalo de confiança de 95% = 83,5-98,7

Concordância percentual negativa (MRSA+) = 97,3; Intervalo de confiança de 95% = 93,3-99,3

Concordância percentual positiva (SA+/MRSA+) = 96,9; Intervalo de confiança de 95% = 91,2-99,4

Concordância percentual negativa (SA+/MRSA+) = 88,3; Intervalo de confiança de 95% = 80,5-93,8

Quando se desconhecia se os sujeitos tomaram antibióticos nas 3 semanas que antecedem a colheita de amostras, o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI identificou 94,0% das amostras como positivas para MRSA e 97,3% das amostras como negativas para MRSA, em relação ao método de cultura de referência, e 96,9% das amostras como positivas para SA e 88,3% das amostras como negativas para SA, em relação ao método de cultura de referência.

Entre estes sujeitos com utilização de antibióticos desconhecida, houve 97,0% (194/200) de êxito à primeira tentativa com o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. Com as restantes 6, obtiveram-se resultados indeterminados na primeira tentativa (2 **INVÁLIDO (INVALID)**, 3 **ERRO (ERROR)** e 1 **SEM RESULTADO (NO RESULT)**). Das 6 amostras com resultados indeterminados à primeira tentativa, todas apresentaram um resultado à segunda tentativa.

Tabela 7. Desempenho do MRSA/SA em sujeitos com utilização de antibióticos conhecida (no prazo de 3 semanas antes da colheita de amostras) vs. cultura de referência

		Cultura			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Sem crescimento	Total
Xpert	MRSA+	44	2	10	56
	SA+/MRSA-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Total	50	34	123	207

Concordância percentual positiva (MRSA+) = 88,0; Intervalo de confiança de 95% = 75,7-95,5

Concordância percentual negativa (MRSA+) = 92,4; Intervalo de confiança de 95% = 87,0-96,0

Concordância percentual positiva (SA+/MRSA+) = 95,2; Intervalo de confiança de 95% = 88,3-98,7

Concordância percentual negativa (SA+/MRSA+) = 76,4; Intervalo de confiança de 95% = 67,9-83,6

Entre os sujeitos com utilização de antibióticos conhecida nas 3 semanas que antecedem a colheita de amostras, o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI identificou 88,0% das amostras como positivas para MRSA e 92,4% das amostras como negativas para MRSA, em relação ao método de cultura de referência, e 95,2% das amostras como positivas para SA e 76,4% das amostras como negativas para SA, em relação ao método de cultura de referência.

Entre estes sujeitos com utilização de antibióticos conhecida, houve 96,1% (199/207) de êxito destas amostras elegíveis à primeira tentativa com o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. As restantes 8 apresentaram resultados indeterminados à primeira tentativa (5 **INVÁLIDO (INVALID)** e 3 **ERRO (ERROR)**). Das 8 amostras com resultados indeterminados à primeira tentativa, todas apresentaram um resultado à segunda tentativa.

21.3 Variantes de cassete vazia

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

Entre as amostras elegíveis incluídas nas análises de dados apresentadas neste relatório, um total de 16 isolados encaixam no perfil de cassete vazia, originando resultados de testes positivos para *spa* e *SCCmec*, mas não detecção de *mecA* (Ct = 0) como se mostra na Tabela 8. Verificou-se que 15 dos 16 eram isolados negativos verdadeiros para MRSA, em relação à cultura, e que 14 dos 16 eram isolados positivos verdadeiros para SA, em relação à cultura. Um isolado foi identificado como MRSA por cultura e 2 isolados foram identificados como negativos para MRSA e SA por cultura.

Tabela 8. Desempenho do MRSA/SA SSTI vs. cultura de referência – variantes de cassete vazia

N.º do sujeito	Xpert Resultado	spa (Ct)	mecA (Ct)	SCCmec (Ct)	Cultura	Xpert vs. cultura	
						MRSA	SA
1	SA	23,6	0	26,0	SA	VN	VP
2	SA	14,7	0	16,5	SA	VN	VP
3	SA	20,5	0	34,0	SA	VN	VP
4	SA	18,4	0	21,0	SA	VN	VP
5	SA	15,6	0	28,4	MRSA	FN	VP
6	SA	17,2	0	31,6	SA	VN	VP
7	SA	34,1	0	35,6	Neg.	VN	FP
8	SA	29,1	0	33,0	SA	VN	VP
9	SA	12,7	0	23,5	SA	VN	VP
10	SA	18,2	0	27,6	SA	VN	VP
11	SA	18,4	0	22,0	SA	VN	VP
12	SA	25,5	0	27,7	SA	VN	VP
13	SA	20,0	0	22,1	Neg.	VN	FP
14	SA	26,0	0	28,3	SA	VN	VP
15	SA	23,9	0	25,7	SA	VN	VP
16	SA	19,9	0	34,0	SA	VN	VP

22. Desempenho analítico

22.1 Especificidade analítica

Estudo de reactividade cruzada

Foram recolhidas, quantificadas e testadas cento e cinco (105) estirpes utilizando o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. As 98 culturas da American Type Culture Collection (ATCC) e 7 estirpes da Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA) representam espécies filogeneticamente relacionadas com o *Staphylococcus aureus* ou aquelas potencialmente encontradas no ambiente hospitalar.

Destas, foram incluídos estafilococos sensíveis à meticilina coagulase-negativos (29) e estafilococos resistentes à meticilina coagulase-negativos (9). Os organismos testados foram identificados como Gram-positivos (74), Gram-negativos (28) ou leveduras (3). Os organismos foram ainda classificados como aeróbios (95) ou anaeróbios (10).

Duas (2) ou mais réplicas de cada isolado foram testadas entre 1,7 e 3,2 unidades McFarland. Nas condições deste estudo, todos os isolados foram indicados como MRSA negativo (MRSA-negative) e SA negativo (SA-negative); nenhum dos isolados foi detectado pelo Xpert MRSA/SA SSTI Assay. Foram incluídos no estudo controlos positivos e negativos. A especificidade analítica foi de 100%.

Avaliação das estirpes BORSA

Foram testadas sete (7) estirpes bem caracterizadas de *Staphylococcus aureus* com resistência limite à oxacilina (BORSA), incluindo uma aparente “cassete vazia” (ver acima). O *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina é resistente a todos os fármacos β -lactâmicos através da proteína de ligação à penicilina alternativa PBP2a, codificada pelo *mecA*.¹⁵ As estirpes BORSA são negativas para o *mecA*, mas exibem uma concentração inibitória mínima (CIM) de oxacilina ≥ 2 e ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$. A distinção entre MRSA e BORSA tem especial valor para impedir a utilização desnecessária e inadequada de vancomicina e precauções de isolamento não justificadas para doentes infectados com uma estirpe susceptível a β -lactâmicos.¹⁶

Nas condições deste estudo, todos os 7 isolados BORSA (incluindo o aparente isolado “cassete vazia”) foram indicados como MRSA negativo/SA positivo (MRSA-negative/SA-positive), tanto com altas como baixas concentrações celulares, utilizando o Xpert MRSA/SA SSTI Assay. Não foram indicados sinais de *mecA*. Estes resultados demonstram que uma estirpe BORSA será correctamente identificada como MRSA negativo/SA positivo (MRSA-negative/SA-positive) e que não será indicado um resultado de teste falso positivo para MRSA com o Xpert MRSA/SA SSTI Assay.

22.2 Sensibilidade analítica

Limite dos estudos de detecção

Foram realizados estudos para determinar os intervalos de confiança de 95% para o limite de detecção (LoD) analítico de células de *Staphylococcus aureus* (SA) e de células de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) diluídas numa matriz de substituição de ferida de origem humana. A matriz de substituição de ferida consistiu num concentrado de leucócitos (WBC – White Blood Cells) preparado a partir de sangue total através de centrifugação. A matriz também continha hemácias (RBC – Red Blood Cells) e plasma, e uma quantidade negligenciável de anticoagulante (CPD ou CPDA-1). O limite de detecção é definido como o número mais baixo de unidades formadoras de colónias (UFC) por amostra que pode ser continuamente reproduzido e distinguido de amostras negativas com 95% de confiança, ou como a menor concentração na qual 19 de 20 réplicas são positivas.

Para o MRSA, réplicas de 20 foram avaliadas em cada concentração de MRSA testada (UFC/zaragatoa) para 6 isolados individuais representando os tipos de SCCmec I, II, III, IVa, V e VI. Na caracterização por electroforese de gel em campo pulsado (PFGE), estiveram representadas a USA100, a estirpe mais comumente adquirida em estabelecimentos de saúde e a USA400, uma das estirpes mais comumente adquiridas em comunidades.

Para o SA, réplicas de 20 foram avaliadas em cada concentração de SA (UFC/zaragatoa) para 3 isolados de SA individuais. Os tipos USA900 e USA1200 estiveram representados.

A estimativa e os intervalos de confiança foram determinados utilizando a regressão logística com dados (número de resultados positivos por número de réplicas em cada nível) no intervalo de UFC/zaragatoa testados. Os intervalos de confiança foram determinados utilizando estimativas de probabilidade máxima nos parâmetros do modelo logístico, utilizando a matriz de variância-covariância para amostras grandes. As estimativas do ponto de LoD e os intervalos de confiança de 95% superiores e inferiores para cada SA e cada tipo de SCCmec de MRSA testado são apresentados resumidamente nas Tabela 9 e Tabela 10.

Tabela 9. Intervalos de confiança de 95% para o LoD analítico – SA

ID da estirpe de SA	PFGE	LoD (UFC/zaragatoa)	IC de 95% inferior	IC de 95% superior
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	Desconhecido	123	97	188

Tabela 10. Intervalos de confiança de 95% para o LoD analítico – MRSA

ID da estirpe de MRSA	SCCMec Tipo	PFGE	LoD (UFC/zaragatoa)	IC de 95% inferior	IC de 95% superior
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	Desconhecido	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Os resultados deste estudo indicam que o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI produz um resultado positivo para SA 95% das vezes com 95% de confiança para uma zaragatoa de ferida contendo 150 UFC e um resultado positivo para MRSA 95% das vezes com 95% de confiança para uma zaragatoa de ferida contendo 300 UFC.

Foram testadas cento e vinte e uma (121) estirpes de *Staphylococcus aureus* adicionais utilizando o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. Foram realizadas culturas de um dia para o outro em meio de infusão cérebro-coração (BHI) e ajustadas para 0,5 unidades McFarland. Todas as estirpes foram testadas em triplicado utilizando 100 µl de culturas diluídas 100 mil a 1 milhão de vezes.

Foram seleccionadas estirpes de MRSA (78) e de SA (43) para representar geralmente a amplitude de diversidade genética encontrada na espécie *Staphylococcus aureus* com base na estrutura filogenética. As selecções representam linhagens primárias com ênfase em complexos clonais específicos dentro dos quais é predominantemente observado o MRSA. Foram incluídas linhagens que contêm MRSA e SA, bem como aquelas que contêm exclusivamente SA.

O ensaio Xpert MRSA/SA SSTI identificou correctamente 116 de 121 estirpes. As 5 discordantes foram caracterizadas por catalase, coagulase em tubo e coloração de Gram. A resistência à oxacilina mediada pelo *mecA* foi testada através de difusão em disco, utilizando um disco de cefoxitina de 30 µg e um cutoff de diâmetro de 21/22 mm.

Três (3) de 78 estirpes de MRSA foram indicadas como MRSA negativo/SA positivo (MRSA-negativo/SA-positivo) utilizando o Xpert MRSA/SA SSTI Assay. Uma caracterização mais profunda indica que estas estirpes não eram resistentes e foram correctamente indicadas como MRSA negativo; SA positivo (MRSA-negativo; SA-positivo).

Duas (2) de 43 estirpes de SA foram indicadas como MRSA positivo/SA positivo (MRSA-positivo/SA-positivo) utilizando o Xpert MRSA/SA SSTI Assay. Uma caracterização mais profunda indica que estas estirpes são resistentes e foram correctamente indicadas como MRSA positivo/SA positivo (MRSA-positivo/SA-positivo).

Cada um dos 12 isolados USA300 conhecidos foi correctamente indicado como MRSA positivo (MRSA-positivo) e SA positivo (SA-positivo), conforme esperado.

22.3 Avaliação das variantes de cassete vazia

Foram testados vinte e dois (22) isolados de *Staphylococcus aureus* identificados como “variantes de cassete vazia” utilizando o ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. As culturas de um dia para o outro foram ajustadas para 0,5 unidades McFarland. Todas as estirpes foram testadas a partir de culturas diluídas mais 100 vezes (elevada) e 100 mil vezes (baixa).

O Xpert MRSA/SA SSTI Assay identificou correctamente todos os 22 isolados como MRSA negativo (MRSA-negativo) e SA positivo (SA-positivo). Em ambas as concentrações celulares testadas, apenas foram indicados Ct (limiares de ciclo) para os alvos do *spa* e *SCCmec*. Não foram indicados nenhuns Ct para o *mecA*.

22.4 Estudo de contaminação por transferência

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência de amostras negativas processadas no mesmo módulo GeneXpert após amostras positivas muito elevadas. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert imediatamente após uma amostra positiva para MRSA muito elevada (aproximadamente 10^7 UFC/teste). Isto foi repetido 20 vezes entre 2 módulos GeneXpert, perfazendo um total de 42 processamentos. Não se encontraram quaisquer evidências de contaminação entre amostras consecutivas. Todas as 21 amostras positivas foram correctamente indicadas como MRSA positivo/SA positivo (MRSA-positivo/SA-positivo). Todas as 21 amostras negativas foram correctamente indicadas como MRSA negativo/SA negativo (MRSA-negativo/SA-negativo).

23. Reprodutibilidade

Foi testado um painel de 10 amostras com concentrações variáveis de SA, MRSA e *Staphylococcus epidermidis* (negativo) em duplicado em 10 dias diferentes em cada um dos três locais (10 amostras x 2 vezes/dia x 10 dias x 3 locais). Foi utilizado um lote do kit Xpert MRSA/SA em cada um dos 3 locais de teste. Os ensaios Xpert MRSA/SA foram realizados de acordo com o procedimento do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI.

Tabela 11. Sumário dos resultados de reprodutibilidade

ID da amostra	Local 1	Local 2	Local 3	Concordância total
Neg. (MSSE)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
SA Neg. elevado	100% (20/20)	100% (20/20)	90% (18/20)	96,7% (58/60)
SA Pos. baixo	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	98,3% (59/60)
MRSA1 Neg. elevado	100% (20/20)	90% (18/20)	100% (20/20)	96,6% (58/60)
MRSA1 Pos. baixo	100% (20/20)	100% (20/20)	90% (18/20)	96,6% (58/60)
MRSA2 Neg. elevado	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA2 Pos. baixo	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96,6% (58/60)
% de concordância total por local	100% (140/140)	97,9% (137/140)	95,7% (134/140)	97,9% (411/420)

SPC			
Nível	Média	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Neg. elevado	34,52	0,82	2,36
MRSA2 Neg. elevado	34,46	0,85	2,46
Neg. (MSSE)	34,44	0,90	2,62
SA Neg. elevado	34,38	0,92	2,66
Spa			
Nível	Média	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Pos. baixo	32,96	0,8	2,44
MRSA2 Pos. baixo	31,05	0,69	2,21
SA Pos. baixo	33,91	0,8	2,35
mecA			
Nível	Média	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Pos. baixo	33,25	0,80	2,40
MRSA2 Pos. baixo	31,50	0,68	2,16
SCCmec			
Nível	Média	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Pos. baixo	34,19	0,90	2,63
MRSA2 Pos. baixo	33,13	0,68	2,05

Foi realizado um segundo estudo de reprodutibilidade utilizando um painel de 4 amostras de (SA: 10X LoD, MRSA1: 10X LoD, MRSA2: 10X LoD e controlo negativo: *Staphylococcus epidermidis*). Os painéis foram testados em duplicado em 10 dias diferentes em cada um dos três locais (4 amostras x 2 vezes/dia x 10 dias x 3 locais). Foi utilizado um lote do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI em cada um dos 3 locais de teste. Os ensaios Xpert MRSA/SA SSTI foram realizados de acordo com o procedimento do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. Foram obtidos resultados correctos em 239 de 240 testes.

Tabela 12. Sumário dos resultados de reprodutibilidade

ID da amostra	Local 1	Local 2	Local 3	Concordância total
Neg. (MSSE)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
SA Pos. moderado ¹	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA1 Pos. moderado ¹	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA2 Pos. moderado ¹	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	98,3% (59/60)
% de concordância total por local	100% (80/80)	100% (80/80)	98,8% (79/80)	99,6% (239/240)

¹ 10X LoD

SPC			
Nível	Média	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Pos. moderado	35,72	1,87	5,24
MRSA2 Pos. moderado	36,29	2,66	7,34
SA Pos. moderado	34,55	1,19	3,44
NEG (Negativo)	34,45	1,06	3,09
Spa			
Nível	Média	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Pos. moderado	29,52	1,30	4,40
MRSA2 Pos. moderado	28,91	1,03	3,57
SA Pos. moderado	30,59	0,91	2,99
mecA			
Nível	Média	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Pos. moderado	29,78	1,28	4,29
MRSA2 Pos. moderado	29,32	1,24	4,22
SCCmec			
Nível	Média	Desv. pad.	% CV
MRSA1 Pos. moderado	31,49	1,26	3,99
MRSA2 Pos. moderado	31,05	1,12	3,59

24. Referências

1. Bannerman TL. 2003 Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Pages 384-404.
2. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al. 2006. Nasal Carriage of Staphylococcus aureus and Methicillin-Resistant S aureus in the United States, 2001-2002. An Family Medicine. 4 (2):132-137.
3. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470-85.
4. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of Endemic Methicillin Resistant Staphylococcus aureus. JAMA 282 (19):1745-51.
5. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Emerging Infectious Diseases 7(2) 323-6.
6. Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.
7. Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible Staphylococcus aureus strains in hospitals. Antimicrobial. Agents Chemother. 51: 4342 – 4350.
8. 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.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
10. Ewig S, Schlochtermeyer M, Göke N, et al. 2002. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions. Chest. 121:1486-1492.
11. RG Dotson and SK Pingleton. 1993. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. Chest. 103, 541-546.
12. Souweine B, Veber B, Bedos JP, et al. 1998. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. Crit Care Med. Feb;26(2):236-244.
13. Kanegaye JT, Solimanzadeh P, Bradley JS, et al. 2001. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. Pediatrics. 108(5):1169-1174.
14. Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. Sep;131:785-787.
15. Nadarajah J, et. al., Identification of different clonal complexes and diverse amino acid substitutions in penicillin-binding protein 2 (PBP2) associated with borderline oxacillin resistance in Canadian Staphylococcus aureus isolates. J of Med Micro (2006), 55: 1675-1683.
16. Ribeiro J, et. al., Misclassification of Susceptible Strains of Staphylococcus aureus as Methicillin-Resistant S. aureus by a rapid Automated Susceptibility Testing System. (1999), 37: 1619-1620.
17. REGULATION (EO) 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/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2007)
18. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

25. Locais das sedes da Cepheid

Sede da empresa	Sede europeia
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 EUA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont França
Telefone: +1 408 541 4191	Telefone: +33 563 825 300
Fax: +1 408 541 4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com/

26. 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 do Computador

Região	Telefone	E-mail
EUA	+1 888 838 3222	techsupport@cepheid.com
Austrália e Nova Zelândia	+ 1800 130 821 + 0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Brasil e América Latina	+55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
China	+86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
França	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Alemanha	+49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
Índia, Bangladeche, Butão, Nepal e Sri Lanka	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Itália	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
África do Sul	+27 86122 76 35	support@cepheideurope.com
Reino Unido	+44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Bélgica, Países Baixos e Luxemburg	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Outros países da Europa, do Médio Oriente e de África	+33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Outros países não indicados acima	+1 408 400 8495	techsupport@cepheid.com

As informações de contacto dos outros escritórios da Cepheid estão disponíveis no nosso sítio Web em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**. Selecciona a opção **Contacte-nos (Contact Us)**.

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em <http://www.cepheid.com/en/support/support/order-management>.

27. Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código do lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Contém suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos



Cepheid

904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089-1189
 EUA

Telefone: +1 408 541 4191

Fax: +1 408 541 4192

For Information Only - Not A Controlled Copy