

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Instruções de utilização

CE **IVD**

Declarações relativas a marcas registradas, patentes e copyright

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2019–2023 Cepheid.

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

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

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

© 2019–2023 Cepheid.

Secção 30 Consulte uma descrição das alterações na .

Xpert MRSA/SA SSTI[®]

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome proprietário

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2 Nome comum ou usual

Xpert MRSA/SA SSTI

3 Utilização prevista

O teste Xpert[®] MRSA/SA para infeções dermatológicas e dos tecidos moles (teste Xpert MRSA/SA SSTI) da Cepheid, realizado no sistema GeneXpert[®] Dx, é um teste qualitativo de diagnóstico *in vitro* destinado à deteção de *Staphylococcus aureus* (SA) e de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) a partir de zaragatoas de infeções dermatológicas e dos tecidos moles. O teste utiliza a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real automatizada para detetar o ADN de MRSA/SA. O teste Xpert MRSA/SA SSTI é indicado para utilização em conjunto com outros testes laboratoriais, como a cultura microbiológica, e com dados clínicos de que o médico disponha como adjuvante na deteção de MRSA/SA a partir de infeções dermatológicas e dos tecidos moles. O teste Xpert MRSA/SA SSTI não se destina à monitorização do tratamento de infeções por MRSA/SA. São necessárias culturas concomitantes de SA e MRSA para recuperar microrganismos para testes de suscetibilidade ou tipagem epidemiológica.

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 infeções dermatológicas e dos tecidos moles, incluindo carbúnculo e furúnculos, e infeções de feridas pós-operatórias em vários locais. Como agente patogénico nosocomial, o *S. aureus* tem sido uma importante causa de morbilidade e mortalidade. As infeções 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 infeções mais graves produzidas por *S. aureus* são: bacteriemia, pneumonia, osteomielite, endocardite aguda, síndrome de choque tóxico, intoxicação alimentar, miocardite, pericardite, cerebrite, meningite, corioamionite, síndrome de pele escaldada e abscessos do músculo, do trato 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 infeções por *S. aureus*. Em 1959, foi introduzida a metilina, uma penicilina sintética. No entanto, por volta de 1960, foram identificadas estirpes de *S. aureus* resistentes à metilina. Determinou-se que isto resultou da aquisição do gene *mecA* pelo *S. aureus*. Atualmente, nos EUA, o MRSA é responsável por aproximadamente 25% das infeções 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 metilina, respetivamente. Também há preocupações crescentes com o custo das infeções por MRSA. Na tentativa de limitar a disseminação destas infeções, estão a ser desenvolvidas e implementadas estratégias e políticas de controlo em estabelecimentos de saúde. O controlo do MRSA é um dos principais objetivos da maioria dos programas de controlo de infeções em hospitais. Atualmente, o método padrão para deteção 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 sistema GeneXpert a purificação de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR em tempo real. O por um instrumento, um computador e software pré-instalado para execução de testes e visualização dos resultados. O 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, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para obter uma descrição completa do , consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity adequado*.

O teste 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 reação PCR. O SPC também assegura que as condições da reação PCR (temperatura e tempo) são apropriadas para a reação de amplificação e que os reagentes da PCR 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI detetam sequências exclusivas para a proteína estafilocócica A (*spa*), o gene de resistência à meticilina (*mecA*) e a cassette cromossómica estafilocócica (*SCCmec*) inserida no local cromossómico *attB* do SA.

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos

O kit do teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI com tubos de reação integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas) 	1 por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> Reagente 1 	3,0 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> Reagente 2 (hidróxido de sódio) 	3,0 ml por cartucho
Bolsa do reagente de eluição Xpert MRSA/SA SSTI	10 x 2,0 ml por bolsa
<ul style="list-style-type: none"> Reagente de eluição (tiocianato de guanidina) 	
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI entre 2 °C e 28 °C.
- Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.
- Não abra um cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilize nenhum reagente que esteja turvo ou que apresente alteração da cor.

7 Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema do instrumento GeneXpert (o número de catálogo varia de acordo com a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com software GeneXpert patenteado versão 4.3 ou superior, leitor de código de barras e manual do utilizador.
- 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 vórtex
- Pipetas de transferência descartáveis
- Gaze estéril

8 Materiais disponíveis mas não fornecidos

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

9 Advertências e precauções

- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos e reagentes usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos CDC (Centers for Disease Control and Prevention)⁸ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.⁹
- Numa cultura mista contendo MRSA/SA e outros microrganismos (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 teste.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- O teste Xpert MRSA/SA SSTI consegue detetar ADN de MRSA e/ou SA de microrganismos não viáveis. A probabilidade desta ocorrência aumenta no caso de doentes medicados com antibióticos.
- O teste Xpert MRSA/SA SSTI não fornece resultados de testes de suscetibilidade antimicrobiana. É necessário tempo adicional para cultura e para realizar testes de suscetibilidade.
- Não substitua os reagentes do teste Xpert MRSA/SA SSTI por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do teste Xpert MRSA/SA SSTI, exceto 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 o reagente.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho de utilização única do teste 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 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 de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.

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

Podem ser colhidas amostras em zaragoas 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 zaragoas 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 zaragoa não testada para cultura microbiológica deve ser colocada em sistemas de transporte adequados e a cultura deve ser efetuada dentro de 4 dias. Se não for enviada até ao dia seguinte, a amostra deve ser transportada em gelo. Em alternativa, as zaragoas podem ser armazenadas entre 2 °C 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 atuais procedimentos operacionais padrão para laboratório. Para cultura, as restantes amostras de zaragoa não testadas deverão ser colocadas em sistemas de transporte adequados e a cultura deverá ser efetuada dentro de 4 dias.

13 Procedimento

13.1 Preparação do cartucho

Importante Inicie o teste dentro de 15 minutos após os reagentes terem sido adicionados ao cartucho.

Para adicionar a amostra e o reagente de eluição ao cartucho:

1. Retire o cartucho e um reagente de eluição 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI.
6. Feche a tampa do cartucho.



Figura 1. Cartucho do 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 enumera os passos predefinidos para utilizar o sistema do instrumento GeneXpert. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do GeneXpert Infinity*.

1. Ligue o sistema do instrumento GeneXpert :

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

- Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. O software GeneXpert iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, ative o instrumento. O software GeneXpert inicia automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no software do sistema do GeneXpert Dx utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe
 3. Na janela do sistema GeneXpert , clique em **Criar teste** (GeneXpert Dx) ou **Pedidos (Orders)** e **Pedir Teste (Order Test)** (Infinity). A janela Criar teste (Create Test) abre-se.
 4. Leia a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do paciente correta. A ID do paciente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela Ver resultados (View Results).

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 (Sample ID) é associada aos resultados do teste e é visualizada na janela Ver resultados (View Results).
6. Realize a leitura do código de barras do cartucho do ensaio Xpert MRSA/SA SSTI. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar ensaio (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota Se o código de barras no cartucho do Xpert MRSA /SA SSTI não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho.

7. Clique em **Iniciar o teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Submeter (Submit)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que aparece.
8. Para o sistema GeneXpert Infinity, coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

ou

No caso do instrumento GeneXpert Dx:

- a. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
- b. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
- c. Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e retire o cartucho.
- d. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos .

14 Visualização e impressão de resultados

Para obter instruções detalhadas adicionais sobre a visualização e a impressão dos resultados, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*.

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

15 Controlo de qualidade

15.1 Controlos de qualidade integrados

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 Sample)**—assegura que a amostra foi processada corretamente. O SPC contém esporos de *Bacillus globigii*, sob a forma de um bolo seco de esporos que está incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado da amostra do teste Xpert MRSA/SA SSTI. O SPC verifica se ocorreu lise do *Staphylococcus aureus*, se os microrganismos estão presentes e se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição do ensaio de PCR em tempo real associada à amostra, assegura que as condições da reação PCR (temperatura e tempo) são apropriadas para a reação de amplificação e que os reagentes de PCR estão funcionais. 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)** — Antes do início da reação PCR, o sistema GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

15.2 Controlos externos

Podem ser utilizados KWIK-STIK™ (Microbiologics, n.º de catálogo 0158MRSA [SCC*mec* tipo II] e n.º de catálogo 0360SA como controlos positivos e n.º 0371MSSE como controlo negativo) para formação, testes de proficiência e CQ externo do sistema GeneXpert. 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

diretamente 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 teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI na Figura 2 a Figura 5.

16 Interpretação dos resultados

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

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

Resultado	Interpretação
MRSA POSITIVO/SA POSITIVO (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE) Figura 2	<p>O teste Xpert MRSA/SA SSTI consegue detetar ADN de MRSA e/ou SA de microrganismos não viáveis.</p> <p>Sequências de ADN-alvo de MRSA detetadas/Sequência de ADN-alvo de SA detetada.</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); o SPC é ignorado porque a amplificação do MRSA poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MRSA NEGATIVO/SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) Figura 3	<p>O teste Xpert MRSA/SA SSTI consegue detetar ADN de MRSA e/ou SA de microrganismos não viáveis.</p> <ul style="list-style-type: none"> Sequências de ADN-alvo de MRSA não detetadas/Sequência de ADN-alvo de SA detetada. 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 detetado, ADN-alvo para o <i>mecA</i> pode ou não ser detetado, ou ADN-alvo para o <i>SCCmec</i> é detetado e ADN-alvo para o <i>mecA</i> não é detetado (“cassete vazia”). SPC – NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do SA poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. <p>Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de microrganismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de MRSA ou SA.</p>
MRSA NEGATIVO/SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) Figura 4	<p>A sequência de ADN-alvo do <i>Staphylococcus aureus</i> não foi detetada. O SPC preenche os critérios de aceitação.</p> <ul style="list-style-type: none"> NEGATIVE (NEGATIVO) — O ADN-alvo de <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>spa</i>) não foi detetado. O ADN-alvo para o <i>mecA</i> pode ou não ser detetado, ou o ADN-alvo para o <i>SCCmec</i> pode ou não ser detetado. SPC — APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. Verificação da sonda — APROVADO (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 com uma razão MRSA:SA de 1:1x10⁶ ou superior.</p> <p>Nos estudos clínicos, 5 das 246 culturas positivas para MRSA tinham infeções mistas de MRSA e SA. O Xpert MRSA/SA SSTI identificou 3 das 5 infeções mistas como MRSA positivo (MRSA positive) e 2 das 5 como SA positivo/MRSA negativo (SA positive/MRSA negative).</p>

Resultado	Interpretação
INVÁLIDO (INVALID) Figura 5	<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 (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 (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 reação 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 (NO RESULT) • SA — SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC — SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda – FALHOU (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 utilizador parou um teste que estava em curso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA — SEM RESULTADO (NO RESULT) • SA — SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC — SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda — NA (NA) (não aplicável)

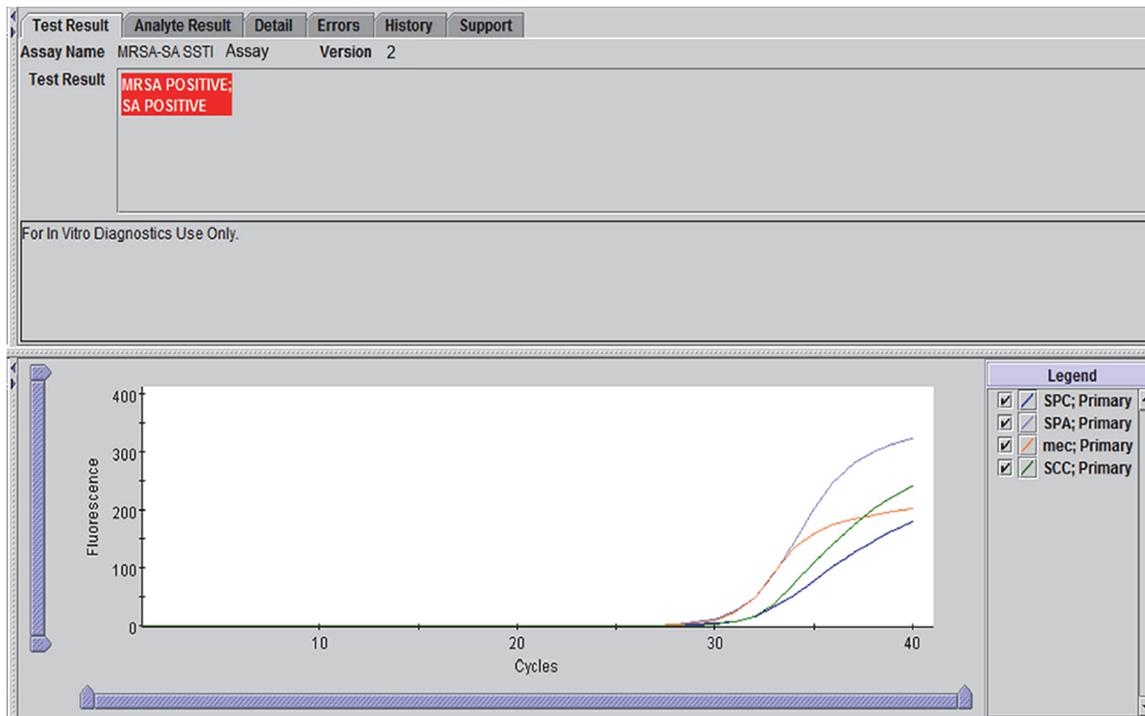


Figura 2. Exemplo de um resultado MRSA positivo; SA positivo (MRSA Positive; SA Positive)

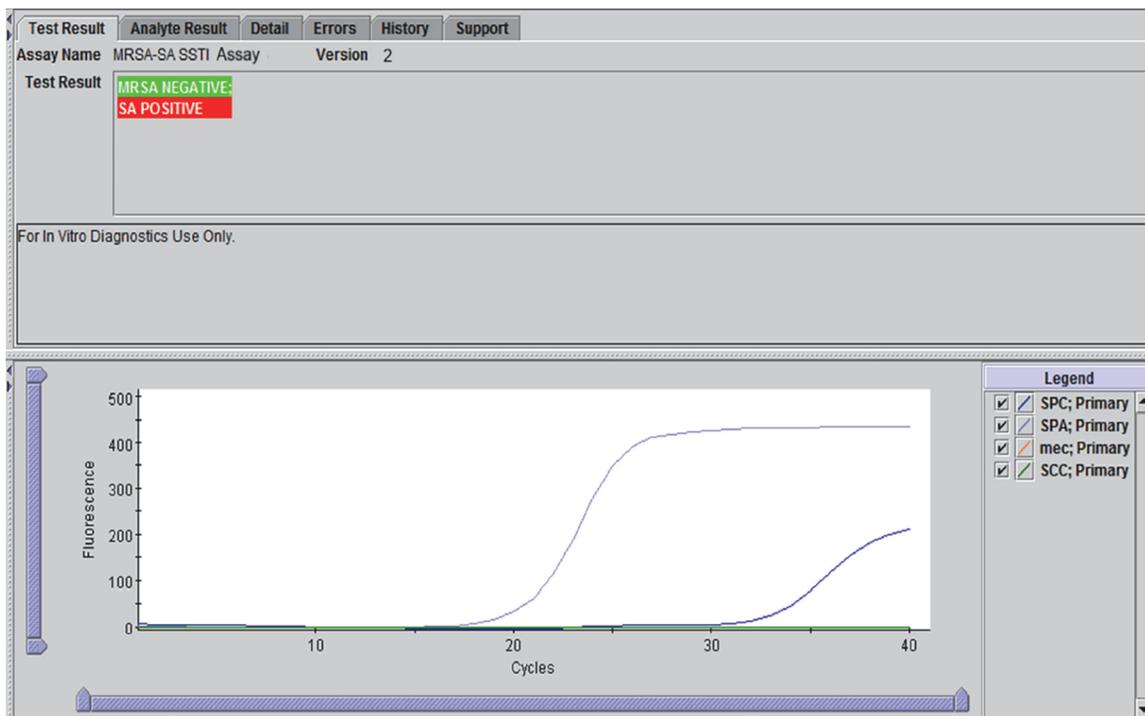


Figura 3. Exemplo de um resultado MRSA negativo; SA positivo (MRSA Negative; SA Positive)

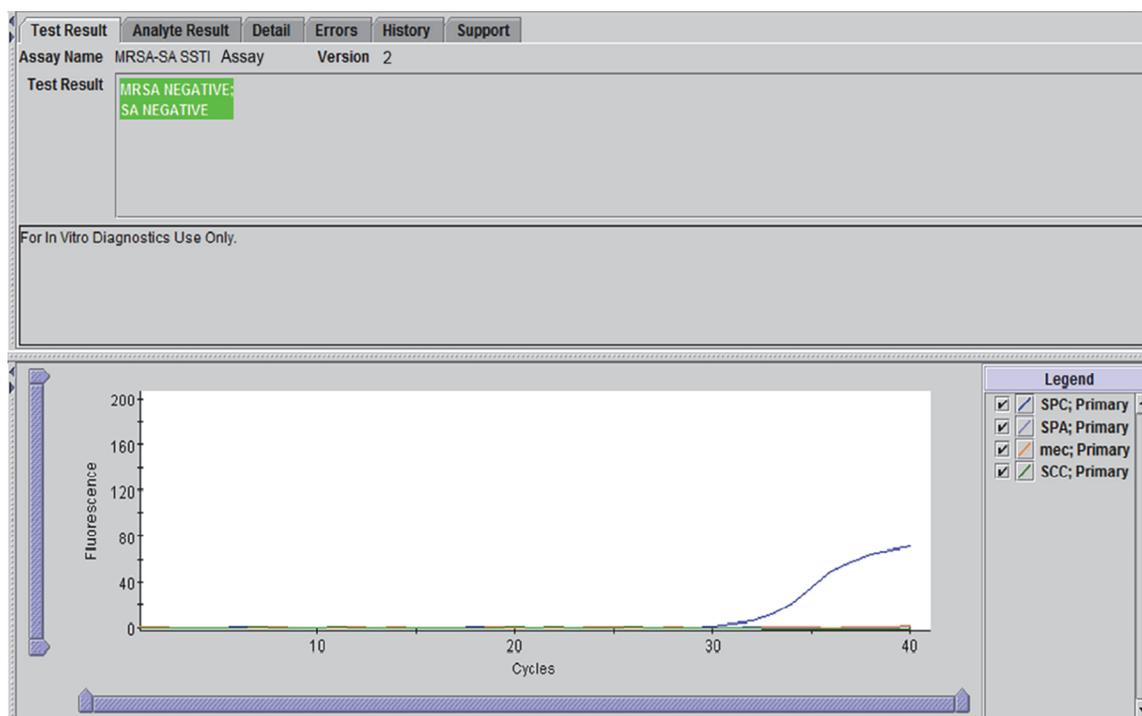


Figura 4. Exemplo de um resultado MRSA Negativo; SA Negativo (MRSA Negative; SA Negative)

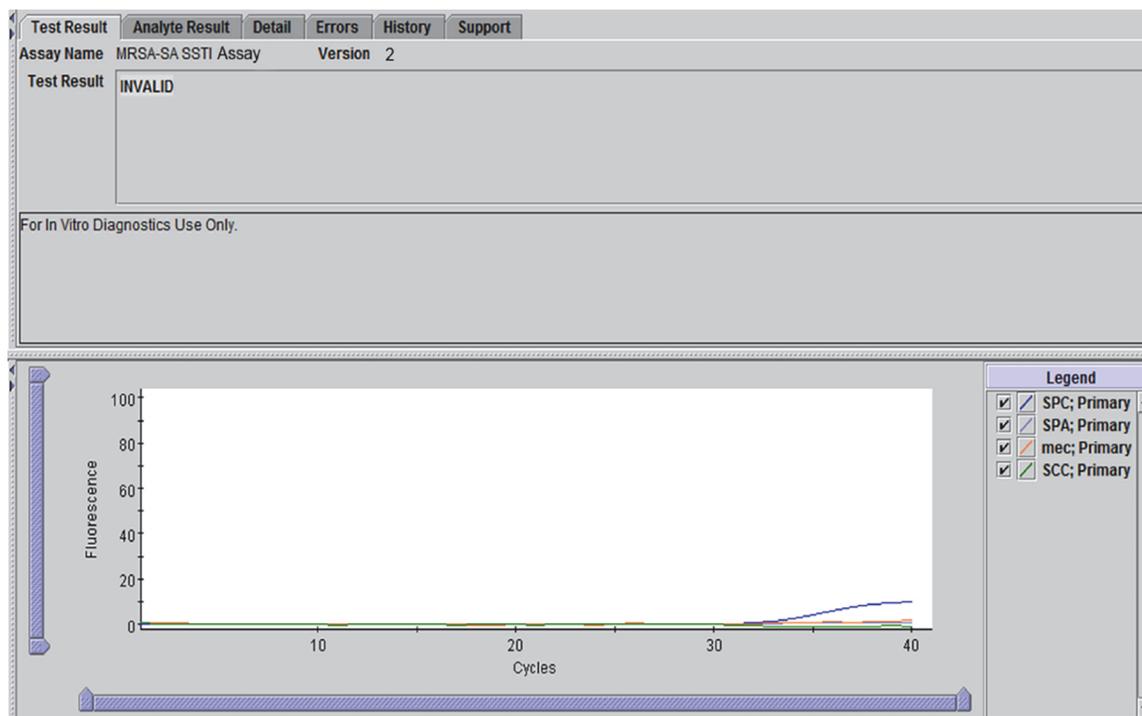


Figura 5. Exemplo de um resultado inválido

17 Motivos para repetir o ensaio

17.1 Motivos para repetir o teste

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 **INVÁLIDO (INVALID)** resultado indica que o controlo SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um **ERRO (ERROR)** resultado 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.
- A **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que os dados recolhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.
- Se o desempenho do CQ externo não for o esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a Cepheid para assistência.

17.2 Procedimento de repetição do teste

Repita o teste utilizando um novo cartucho (não reutilize o cartucho) e um novo frasco de reagente de eluição.

Para repetir um 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 teste MRSA/SA SSTI.
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.

18 Limitações

- O desempenho do teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI deverão ser interpretados em conjunção com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- O teste Xpert MRSA/SA SSTI consegue detetar ADN de MRSA e/ou SA de microrganismos 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 deteção de SA em pacientes 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 deteção 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 microrganismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de MRSA ou SA.
- Os testes com o teste Xpert MRSA/SA SSTI deverão ser utilizados como adjuvantes a outros métodos disponíveis.
- 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 evitarem resultados incorretos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.
- Dado que a deteção de MRSA e SA depende do número de microrganismos presentes na amostra, resultados fiáveis dependem da colheita, manuseamento e conservação de amostras adequados.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador (primer) ou da sonda poderão afetar a deteção de variantes de MRSA novas ou desconhecidas, originando um resultado falso negativo.
- Em amostras contendo MRSA e SA, o teste Xpert MRSA/SA SSTI pode não detetar os microrganismos de SA resistentes à meticilina. (No ensaio clínico central, o teste Xpert MRSA/SA SSTI não detetou 2 de 5 amostras de cultura positivas para MRSA em situações com infeções 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 infeções mistas de MRSA e SA. O Xpert MRSA/SA SSTI identificou 3 das 5 infeções

mistas como MRSA positivo (MRSA positive) e 2 das 5 como SA positivo/MRSA negativo (SA positive/MRSA negative).

- Observou-se inibição do teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI gerará um resultado falso positivo para MRSA ao testar uma amostra de SSTI com infecções mistas, contendo tanto *Staphylococcus* resistente à meticilina coagulase-negativo (MRCNS) como *Staphylococcus aureus* (SA) de cassete vazia sensível à meticilina.
- Devido ao fator de diluição associado ao procedimento de repetição de teste, é possível que as amostras positivas para MRSA ou SA muito próximas do, ou equivalentes ao, limite de deteção (LoD) do teste Xpert MRSA/SA SSTI possam originar um resultado falso negativo na repetição do teste.

19 Substâncias que interferem

No estudo de investigação para o teste 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 exatos de Fisher realizados nos dados gerados a partir de zaragatoas com e sem estas potenciais substâncias interferentes demonstraram que a sua presença não afetou o desempenho do teste.

Num estudo não clínico, potenciais substâncias interferentes passíveis de estarem presentes em amostras clínicas de infeções dermatológicas e dos tecidos moles foram avaliadas diretamente em relação ao desempenho do teste 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 ativos e as concentrações testadas. Observou-se inibição do teste MRSA/SA SSTI com as seguintes substâncias: Antisséptico para staph (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.

Tabela 2. Potenciais substâncias de SSTI interferentes testadas

Substância	Ingrediente ativo	% testada
Tampão TET	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 ativo	% testada
Tampão TET (controlo)	Controlo	Controlo
Mupirocina	Cloreto de benzetônio 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)
Desinfetante 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	100	25	25,0%	55	55,0%
Idade entre 19 e 65	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 do desempenho do teste Xpert MRSA/SA SSTI foram determinadas num estudo multicêntrico de investigação prospetiva em quatro instituições dos EUA, comparando o teste Xpert MRSA/SA SSTI com a cultura de referência. Os sujeitos incluíram indivíduos cujos cuidados de rotina exigiam a colheita com zaragatoa da infeção dermatológica e dos tecidos moles do doente para cultura.

Foram recolhidas zaragatoas duplas de cada sujeito. Uma zaragatoa foi testada com o teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI foi calculado em relação aos resultados da cultura de referência.

21.2 Resultados globais

Foi testado um total de 848 amostras para MRSA e SA com o teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI quando eram utilizados antibióticos, nem foi observada nenhuma inibição do ensaio na presença de antibióticos tópicos (consulte a Secção 20 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI.

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

O desempenho do teste 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			Total
	MRSA+	SA+/MRSA-	Negat./Sem crescimento	
MRSA+	137 ^a	2	6	145
SA+/MRSA-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Total	146	85	210	441

^a 1 das 137 era infeção mista por MRSA e SA.

^b 2 das 3 eram infeções mistas por MRSA e SA.

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

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

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

Concordância negativa percentual (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 teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI. As restantes 14 produziram resultados indeterminados na primeira tentativa (6 **INVÁLIDO (INVALID)**, 7 **ERRO (ERROR)** e 1 **SEM RESULTADO (NO RESULT)**). Das 14 com resultados indeterminados à primeira tentativa, todas as 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-	Negat./Sem crescimento	Total
Xpert	MRSA+	47 ^a	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Total	50	47	103	200

^a 2 das 47 eram infecções mistas por MRSA e SA

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

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

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

Concordância negativa percentual (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 teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI. Os restantes 6 produziram 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 as 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-	Negat./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 positiva percentual (MRSA+) = 88,0; Intervalo de confiança de 95% = 75,7 - 95,5

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

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

Concordância negativa percentual (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 teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI. Os restantes 8 produziram resultados indeterminados na primeira tentativa (5 **INVÁLIDO (INVALID)** e 3 **ERRO (ERROR)**). Das 8 amostras com resultados indeterminados à primeira tentativa, todas as apresentaram um resultado à segunda tentativa.

21.3 Variantes de cassete vazia

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

Assunto #	Resultado do Xpert	Ct do <i>spa</i>	Ct do <i>mecA</i>	Ctdo <i>SCC mec</i>	Cultura	Xpert vs. cultura	
						Infeções	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	Infeções	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 Estudo de especificidade analítica Reatividade cruzada

Foram recolhidas, quantificadas e testadas cento e cinco (105) estirpes utilizando o teste 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 microrganismos testados foram identificados como Gram-positivos (74), Gram-negativos (28) ou leveduras (3). Os microrganismos 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 detetado pelo teste Xpert MRSA/SA SSTI. Foram incluídos no estudo controlos positivos e negativos. A especificidade analítica foi de 100%.

22.2 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 de ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$ 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 pacientes infetados com uma estirpe suscetível a β -lactâmicos¹⁶.

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 teste Xpert MRSA/SA SSTI. Não foram indicados sinais de *mecA*. Estes resultados demonstram que uma estirpe BORSA será corretamente identificada como MRSA negativo/SA positivo (MRSA negative/SA positive) e que não será indicado um resultado de teste falso positivo para MRSA com o teste Xpert MRSA/SA SSTI.

22.3 Sensibilidade analítica

Estudos de Limite de deteção

Foram realizados estudos para determinar os intervalos de confiança de 95% para o limite de deteção (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 deteção é definido como o número mais baixo de unidades formadoras de colónias (UFC) por amostra que pode ser continuamente reproduzido e distinguido de amostras negativas com 95% de confiança, ou como a menor concentração na qual 19 de 20 réplicas são positivas.

Para o MRSA, réplicas de 20 foram avaliadas em cada concentração de MRSA testada (UFC/zaragatoa) para 6 isolados individuais representando os tipos de SCC*mec* I, II, III, IVa, V e VI. Na caracterização por eletroforese 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 SCC*mec* 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	Desconhecida	123	97	188

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

ID da estirpe de MRSA	Tipo de SCCmec	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	Desconhecida	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 teste 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 teste 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 selecionadas 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 seleções representam linhagens primárias com ênfase em complexos clonais específicos dentro dos quais é predominantemente observado o MRSA. Foram incluídas linhagens que contêm MRSA e SA, bem como aquelas que contêm exclusivamente SA.

O teste Xpert MRSA/SA SSTI identificou corretamente 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 negative/SA positive) utilizando o teste Xpert MRSA/SA SSTI. Uma caracterização mais profunda indica que estas estirpes não são resistentes e foram corretamente indicadas como MRSA negativo; SA positivo (MRSA negative; SA positive).

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

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

23 Avaliação das variantes de cassete vazia

Foram testados 22 isolados de *Staphylococcus aureus* identificados como “variantes de cassete vazia” utilizando o teste 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 teste Xpert MRSA/SA SSTI identificou corretamente todos os 22 isolados como negativos para MRSA e positivos para SA. 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*.

24 Estudo de contaminação por transferência (carry-over)

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência de amostras negativas processadas no mesmo módulo GeneXpert após amostras positivas muito elevadas. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert imediatamente após uma amostra positiva para MRSA muito elevada (aproximadamente 10⁷ UFC/teste). Isto foi repetido 20 vezes entre 2 módulos GeneXpert, perfazendo um total de 42 processamentos. Não se encontraram quaisquer evidências de contaminação

por transferência. Todas as 21 amostras positivas foram corretamente indicadas como MRSA positivo/SA positivo (MRSA positive/SA positive). Todas as 21 amostras negativas foram corretamente indicadas como MRSA negativo/SA negativo (MRSA negative/SA negative).

25 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 testes Xpert MRSA/SA foram realizados de acordo com o procedimento do teste Xpert MRSA/SA SSTI.

Tabela 11. Resumo 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)

Tabela 12. Sumário de resultados do valor Ct por nível de amostra e sonda

Nível	Média aritmética	Desv. pad	%CV
SPC			
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 aritmética	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 aritmética	Desv. pad	%CV
MRSA1 Pos. baixo	33,25	0,80	2,40
MRSA2 Pos. baixo	31,50	0,68	2,16
SCCmec			

Nível	Média aritmética	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 teste Xpert MRSA/SA SSTI em cada um dos 3 locais de teste. Os testes Xpert MRSA/SA SSTI foram realizados de acordo com o procedimento do teste Xpert MRSA/SA SSTI. Foram obtidos resultados corretos em 239 de 240 testes.

Tabela 13. Resumo 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 ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA1 Pos. moderado ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA2 Pos. moderado ^a	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)

^a 10X LoD

Tabela 14. Sumário de resultados do valor Ct por nível de amostra e sonda

Nível	Média aritmética	Desv. pad	%CV
SPC			
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.	34,45	1,06	3,09
spa			
Nível	Média aritmética	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 aritmética	Desv. pad	%CV
MRSA1 Pos. moderado	29,78	1,28	4,29
MRSA2 Pos. moderado	29,32	1,24	4,22
SCCmec			

Nível	Média aritmética	Desv. pad	%CV
MRSA1 Pos. moderado	31,49	1,26	3,99
MRSA2 Pos. moderado	31,05	1,12	3,59

26 Referências

- 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. Páginas 384-404.
- 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.
- 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.
- Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. JAMA 282(19):1745-51.
- Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Diseases 7(2) 323-6.
- Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.
- 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.
- 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.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Guideline aprovada. Document M29 (consultar a edição mais recente).
- 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.
- 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.
- 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.
- Kanegaye JT, Soliemanzadeh 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.
- Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. Sep;131:785-787.
- 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.
- 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.
- 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. Lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006).
- Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

27 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

28 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 do software e, caso se aplique, número da etiqueta de serviço do computador

Estados Unidos da América

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

França

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

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

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

29 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não utilizar mais de uma vez

Símbolo	Significado
	Código do lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para n testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marcação CE – Conformidade Europeia
	Limites de temperatura
	Atenção
	Riscos biológicos
	Representante autorizado na Suíça
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



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



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



30 Histórico de revisões

Secção	Descrição da alteração
Tabela de símbolos	Adição do símbolo do CH REP e do importador, bem como definições na tabela de símbolos. Adição da informação do CH REP e do importador, incluindo o endereço na Suíça.
Histórico de revisões	Atualização da tabela relativa ao histórico de revisões.