

Xpert[®] MTB/XDR

REF GXMTB/XDR-10

Instruções de utilização

IVD CE

Declarações relativas a marcas registadas, 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.

© 2020–2023 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.

© 2020–2023 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações na Secção 25 Histórico de revisões.

Xpert[®] MTB/XDR

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

1 Nome proprietário

Xpert[®] MTB/XDR

2 Nome comum ou usual

Xpert MTB/XDR

3 Finalidade

3.1 Utilização prevista

O teste Xpert MTB/XDR, realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert, é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real “nested” para detecção de ADN do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) extensamente resistente a fármacos (XDR) em amostras de expetoração não processadas, em sedimentos concentrados preparados a partir de expetoração ou em cultura em tubo indicador de crescimento bacteriano da BD[™] (MGIT[™]). Em amostras em que o MTB é detetado, o teste Xpert MTB/XDR tem igualmente capacidade para detetar mutações nos genes *katG* e *fabG1*, região intergénica *oxyR-ahpC* e promotor do *inhA* associadas a resistência à isoniazida (INH); resistência à etionamida (ETH) associada a mutações apenas no promotor do *inhA*; mutações associadas a resistência às fluoroquinolonas (FLQ) nas regiões determinantes da resistência às quinolonas (QRDR) *gyrA* e *gyrB* e mutações no gene *rrs* e na região promotora do *eis* associadas a resistência a fármacos injetáveis de segunda linha (SLID).

O teste Xpert MTB/XDR destina-se a ser utilizado como um teste de segunda linha para uma amostra (expetoração não processada, sedimentos de expetoração concentrados ou cultura em MGIT) que é determinada como sendo MTB positiva. Este teste destina-se a servir como auxiliar do diagnóstico da tuberculose (TB) XDR quando utilizado em conjunto com resultados clínicos e outros resultados laboratoriais.

3.2 Utilizador/ambiente previsto

O teste Xpert MTB/XDR destina-se a ser executado por utilizadores com formação em contexto de laboratório.

4 Resumo e explicação

A tuberculose (TB), uma doença causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, continua a ser uma das doenças mais mortais do planeta. Em 2018, estima-se que ocorreram 10 milhões de novos casos de TB e cerca de meio milhão de novos casos de TB resistente à rifampicina, dos quais 78% apresentavam TB multirresistente (MDR-TB)¹. A MDR-TB, definida como resistência à isoniazida e à rifampicina (dois dos medicamentos de primeira linha mais eficazes), continua a ser uma ameaça à saúde pública e a Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou novas diretrizes de tratamento apelando a testes rápidos de suscetibilidade a fármacos^{2,3}. Mesmo assim, em 2018, o número global de casos de MDR/RR-TB notificados era ainda de apenas 39% do número estimado de casos incidentes e o número de pessoas a fazer tratamento era equivalente a 32%¹. De igual forma, existe uma outra preocupação crescente relativamente a TB resistente à isoniazida e suscetível à rifampicina não diagnosticada e não tratada. Sem um acesso fácil a testes de resistência à INH, os países debatem-se para identificar pacientes e implementar as recomendações de tratamento da OMS de 2018 para a Hr-TB⁴. Os casos mais preocupantes de TB são causados por estirpes MDR MTB que adquiriram resistências adicionais às fluoroquinolonas e a qualquer um

dos fármacos injetáveis de segunda linha, a amicacina (AMK), a canamicina (KAN), ou a capreomicina (CAP). Estas estirpes altamente resistentes designam-se por TB extensamente resistente a fármacos (XDR-TB). A XDR-TB é muito difícil de tratar e pode levar a taxas elevadas de mortalidade, especialmente quando se falha um diagnóstico de XDR-TB e o tratamento apropriado é atrasado⁵.

Os testes de suscetibilidade a fármacos fenotípicos e com cultura para o MTB são morosos, trabalhosos e representam um grave perigo biológico para os trabalhadores do laboratório, resultando em menos instituições acreditadas em países onde o MTB é endêmico². Mesmo quando estão disponíveis, os testes de suscetibilidade à base de cultura podem demorar entre semanas e meses a estarem prontos. O MTB também pode ser testado quanto a resistência a fármacos utilizando ensaios genotípicos rápidos, sensíveis e mais seguros, que detetam a resistência através da identificação de mutações conhecidas por conferirem resistência a fármacos de primeira e segunda linhas, numa maioria de estirpes clínicas². Abordagens com testes genotípicos que podem ser reduzidas a apenas alguns passos manuais são mais fáceis para cuidados de saúde próximos do paciente, o que pode aumentar drasticamente a sua disponibilidade para populações com carências de assistência médica, em contexto endêmico alto e baixo⁵.

5 Princípio do procedimento

O teste Xpert MTB/XDR é um teste de diagnóstico *in vitro* automatizado para a deteção de ADN do complexo XDR MTB e de mutações associadas a resistência. O teste é realizado nos GeneXpert Instrument Systems da Cepheid equipados com módulos GeneXpert de 10 cores.

Os GeneXpert Instrument Systems automatizam e integram o processamento de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a deteção das sequências-alvo em amostras utilizando PCR em tempo real “nested” e deteção de picos de fusão. O GeneXpert Instrument Systems é composto por um instrumento, um computador, um leitor de códigos de barras e software pré-instalado para efetuar testes em amostras colhidas e visualizar os resultados. O sistema necessita da utilização de cartuchos Xpert descartáveis de utilização única que contêm os reagentes da reação em cadeia da polimerase (PCR) específicos para o alvo e onde decorre o processo de PCR e a deteção dos picos de fusão. Dado que os cartuchos Xpert são independentes, o risco de contaminação cruzada entre as amostras é minimizado. Para obter uma descrição completa do sistema, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

O cartucho do teste Xpert MTB/XDR inclui reagentes para a deteção do perfil do XDR MTB, bem como um controlo de processamento da amostra (SPC) para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e para monitorizar a presença de inibidor(es) na reação PCR. O controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

O cartucho do teste Xpert MTB/XDR tem todos os reagentes integrados, exceto o reagente de amostra (SR) que tem de ser adicionado pelo utilizador à amostra antes do carregamento da amostra tratada no cartucho. O teste destina-se a ser executado como um teste de segunda linha para amostras positivas para MTB.

Os resultados são interpretados pelo software GeneXpert a partir de sinais de fluorescência medidos e de algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela “Ver resultados” (View Results) em formato de tabela e gráfico. Mostra igualmente se o teste é inválido, deu erro ou sem resultado. O Xpert MTB/XDR deteta XDR MTB com resistência à INH, ETH, FLQs e SLIDs diretamente a partir de expetoração não processada ou de sedimento de expetoração concentrado, em menos de 90 minutos.

6 Materiais fornecidos

O kit Xpert MTB/XDR contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 amostras de pacientes ou de controlo de qualidade. O kit contém os seguintes itens:

Xpert MTB/XDR Cartuchos com tubos de reação integrados	10 por kit
<ul style="list-style-type: none"> ● Esfera 1, Esfera 2, Esfera 3, Esfera 4, Esfera 5 (liofilizadas) ● Esfera do controlo de processamento da amostra (liofilizada) ● Reagente 1 ● Reagente 2 	1 de cada por cartucho 1 de cada por cartucho 4.0 ml por cartucho 4.0 ml por cartucho
Pipetas de transferência descartáveis	1 embalagem de 12 por kit
Reagente de amostra	10 x 8 ml por frasco
CD	1 por kit

- Ficheiros de definição do ensaio (ADF — assay definition files)
- Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert
- Instruções de utilização (folheto informativo)

Nota O reagente de amostra (SR) pode variar entre incolor a amarelo ou âmbar. A cor pode intensificar-se ao longo do tempo, porém esta não tem qualquer efeito no desempenho.

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.

Nota As pipetas de transferência contêm uma marca única que representa o volume mínimo de amostra tratada que é necessário transferir para o cartucho. Utilize unicamente para este fim. Todas as outras pipetas devem ser fornecidas pelo laboratório.

7 Conservação e manuseamento

- Conserve o kit de Xpert MTB/XDR entre 2 °C e 28 °C até à data de validade indicada no rótulo.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Inicie o teste dentro de 2,5 horas após adição de SR à amostra ou dentro de 4 horas se conservada entre 2 °C e 8 °C.
- Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.
- Não utilize um cartucho com fuga.

8 Materiais necessários, mas não fornecidos

- GeneXpert Dx System: Instrumento GeneXpert equipado com módulos GeneXpert de 10 cores, computador, leitor de códigos de barras e manual do utilizador.
 - Para GeneXpert Dx System: Versão de software 6.2 ou posterior
 - Impressora: caso necessite de uma impressora, contacte o Representante de Vendas da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Recipiente de amostras de tampa de rosca, estéril
- Luvas descartáveis
- Rótulos e/ou marcador permanente para rotulagem
- Pipetas estéreis para o processamento de amostras

9 Advertências e precauções

9.1 Geral

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*
- 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 devem ser tratadas aplicando as precauções padrão.
- Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças) dos EUA³ e no Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais).^{6,7,8}
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Use luvas descartáveis de proteção, bata de laboratório e proteção ocular durante o manuseamento de amostras e reagentes. Lave muito bem as mãos após o manuseamento das amostras e dos reagentes do teste.

- 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 e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial de Saúde)⁹.
- O reagente de amostra contém hidróxido de sódio (pH > 12,5) e isopropanol. Nocivo por ingestão (H302), provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves (H314). Líquido e vapor inflamáveis (H226).
- As características do desempenho deste teste só foram estabelecidas com os tipos de amostra indicados na secção Utilização prevista. Não se avaliou o desempenho deste teste com outros tipos de amostras.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.

9.2 Amostra


- Os procedimentos de colheita e manuseamento das amostras exigem formação e orientação específicas.
- Manter condições de conservação adequadas durante o transporte da amostra, para assegurar a integridade da amostra (ver Secção 12. Procedimento). Não foi avaliada a estabilidade da amostra em condições de transporte que não as recomendadas.
- Rejeite amostras que contenham partículas de alimentos visíveis ou outras partículas sólidas.
- A colheita, a conservação e o transporte corretos da amostra são essenciais para resultados corretos.
- O material de cultura de um frasco de cultura MGIT positivo pode ser utilizado puro ou diluído 100 vezes com PBS ou meio Middlebrook 7H9. O teste também pode ser executado com culturas inativadas pelo calor. Para inativação pelo calor, recomenda-se que a cultura seja primeiro diluída 100 vezes com PBS ou meio Middlebrook 7H9 e, em seguida, aquecida a 100 °C durante 20 minutos.

9.3 Teste/reagente

- Não substitua os reagentes do teste Xpert MTB/XDR por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do teste Xpert MTB/XDR, exceto quando adicionar a amostra.
- Não utilize cartuchos que tenham caído após a remoção do kit ou agitados após a abertura da respetiva tampa. Agitar ou deixar cair o cartucho depois da abertura da tampa pode produzir resultados falsos ou indeterminados.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho ou no rótulo do código de barras.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho do teste Xpert MTB/XDR de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- Uma pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis usadas.
- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de amostras de pacientes diferentes para evitar a contaminação de amostras ou de reagentes.
- Na eventualidade de derrame da amostra ou dos controlos, use luvas e absorva o derrame com toalhetes de papel. Em seguida, limpe minuciosamente a área contaminada com uma diluição de 1:10 de lixívia doméstica à base de cloro. A concentração de cloro ativo final deve ser de 0,5%, independentemente da concentração da lixívia doméstica usada no seu país. Aguarde no mínimo dois minutos de tempo de contacto. Certifique-se de que a área de trabalho está seca antes de utilizar etanol a 70% desnaturado para remover os resíduos de lixívia. Aguarde até que a superfície seque completamente antes de prosseguir. Em alternativa, siga os procedimentos padrão da sua instituição para casos de contaminação ou derrame. Para o equipamento, siga as recomendações do fabricante para a descontaminação do equipamento.
- O teste Xpert MTB/XDR foi validado utilizando o software da Cepheid, versão 6.2 ou posterior.

10 Riscos químicos^{9,10}

Reagente de amostra:

- Contém álcool isopropílico
- Contém hidróxido de sódio
- Palavra-sinal: PERIGO
- Pictogramas de perigo GHS da ONU: 
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Líquido e vapor inflamáveis.
 - Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
 - Provoca lesões oculares graves.
 - Suspeito de provocar anomalias genéticas.
 - Suspeito de afetar a fertilidade ou o nascituro.
 - Pode afetar os órgãos após exposição prolongada ou repetida.
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
- **Prevenção**
 - Pedir instruções específicas antes da utilização.
 - Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
 - Manter afastado do calor, fâsca, chama aberta e/ou superfícies quentes. — Não fumar.
 - Manter o recipiente bem fechado.
 - Não respirar névoas, vapores e/ou aerossóis.
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
 - Usar luvas de proteção, vestuário de proteção, proteção ocular, proteção facial.
 - Usar o equipamento de proteção individual exigido.
- **Resposta**
 - Em caso de incêndio: para a extinção utilizar os meios adequados.
 - EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.
 - Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche.
 - Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar.
 - Tratamento específico, ver informação de primeiros-socorros suplementar.
 - 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.
 - EM CASO DE INGESTÃO: Enxaguar a boca. NÃO provocar o vómito.
 - EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.
 - Em caso de indisposição, consulte um médico.
- **Conservação/Eliminação**
 - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

11 Colheita, transporte e conservação de amostras

As amostras podem ser colhidas seguindo os procedimentos padrão da instituição do utilizador.

A recolha, a conservação e o transporte adequados das amostras são fundamentais para o desempenho deste teste. Não foi avaliada a estabilidade da amostra com o teste Xpert MTB/XDR noutras condições de transporte e conservação além das indicadas a seguir.

11.1 Transporte de sedimento de expetoração

Transportar as amostras de sedimento a temperaturas entre 2 °C e 8 °C.

11.2 Transporte de expetoração não processada

Transporte as amostras de expetoração não processada a temperaturas entre 2 °C e 35 °C.

11.3 Conservação de amostras

As amostras de expetoração não processadas podem ser conservadas a 2 °C–35 °C durante 7 dias (incluindo o tempo de entrega)

O sedimento de expetoração descontaminado/concentrado e ressuspensão pode ser conservado a 2 °C–8 °C durante um máximo de 7 dias, até os testes serem efetuados no GeneXpert.

Ao testar expetoração não processada ou sedimento de expetoração descontaminado/concentrado, consulte a Tabela 1 a seguir para determinar o volume de amostra adequado.

Tabela 1. Volume adequado da amostra

Tipo de amostra	Volume mínimo para um teste	Volume da amostra máximo	Rácio de amostra para reagente de amostra (SR)
Sedimento de expetoração	0,5 ml	2,5 ml	1:3 ^a
Expetoração não processada	1,0 ml	4,0 ml	1:2

^a O rácio amostra para SR de 1:2 deve ser utilizado com um volume da amostra igual ou superior 0,7 ml para um teste.

11.4 Amostras tratadas com SR remanescentes

O teste Xpert MTB/XDR pode ser utilizado para testar amostras tratadas com SR que tenham sobrado dos ensaios Xpert MTB/RIF ou Xpert MTB/RIF Ultra. Contudo, nesses casos, o volume da amostra tratada com SR remanescente tem de ser ≥ 2 ml e a mistura deve estar conservada entre 2 °C e 8 °C durante um máximo de 4 horas ou até 35 °C durante um máximo de 2,5 horas.

11.5 Isolados de cultura de um tubo indicador de crescimento micobacteriano da BD (Mycobacterial Growth Indicator Tube, MGIT)

Têm sido obtidos resultados válidos durante o estudo clínico com o teste Xpert MTB/XDR, utilizando culturas positivas para MTB de um tubo indicador de crescimento micobacteriano da BD (MGIT). Para testar isolados de MTB de frascos de cultura MGIT positivos, utilize, pelo menos, 1,0 ml de material de cultura.

Nota As culturas de micobactérias de amostras clínicas devem ser manuseadas com controlos apropriados de contenção de biossegurança.

Antes de iniciar o teste, deve ser utilizado um rácio de 1:2 de amostra para SR seguido de uma incubação de 15 minutos com 10 segundos de agitação em vórtice a cada 5 minutos ou com agitação contínua para evitar a formação de depósito. Inicie a execução do teste GeneXpert nos 30 minutos a seguir à adição de 2 ml de SR ao material de cultura.

12 Procedimento

12.1 Procedimento para expetoração não processada

Importante Inicie o teste dentro de 2,5 horas após adição de SR à amostra ou dentro de 4 horas se conservada entre 2°C e 8°C.

Nota Rejeite amostras que contenham partículas de alimentos visíveis ou outras partículas sólidas.

Requisitos de volume: é necessário ≥ 1 ml de expetoração não processada.

1. Abra cuidadosamente a tampa do recipiente estanque de colheita de expetoração. Ver Figura 1.



Figura 1. Abrir o recipiente de colheita de expetoração

2. Verta cerca de 2 vezes o volume do SR na expetoração (diluição 2:1, SR:expetoração). Consulte Figura 2 e Figura 3.



Figura 2. Exemplo de diluições de 2:1 (8 ml de SR:4 ml de expetoração)



Figura 3. Exemplo de diluição de 2:1 (2 ml de SR:1 ml de expetoração)

Nota Elimine o SR restante e o frasco num recipiente de resíduos adequado de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

3. Feche bem a tampa do recipiente da amostra.
4. Agite vigorosamente 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.

Nota Um movimento para a frente e para trás corresponde a uma única agitação.

5. Incube durante 10 minutos à temperatura ambiente e, depois, agite vigorosamente a amostra 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.
6. Proceda à incubação da amostra à temperatura ambiente durante mais 5 minutos.

12.2 Procedimento para sedimentos de expetoração concentrados e descontaminados

Importante Inicie o teste dentro de 2,5 horas após adição de SR à amostra ou dentro de 4 horas se conservada entre 2°C e 8°C.

Nota Rejeite amostras que contenham partículas de alimentos visíveis ou outras partículas sólidas.

Requisitos de volume: os sedimentos de expetoração preparados de acordo com o método de Kent e Kubica¹¹ (procedimento de digestão-descontaminação utilizando o método de NALC-NaOH e ressuspensos em tampão fosfato 67 mM/H₂O) podem ser testados utilizando o teste Xpert MTB/XDR. Depois da ressuspensão, reserve pelo menos 0,5 ml do sedimento ressuspensionado para o teste Xpert MTB/XDR. Para todos os volumes inferiores a 0,7 ml, efetue os passos 1 a 5 para preparar as amostras. Estes passos requerem 3 partes de SR para 1 parte de sedimento, de modo a gerar um volume adequado para um desempenho ótimo do teste. Se o volume da amostra for igual ou superior a 0,7 ml, o volume de teste adequado pode ser produzido adicionando 2 partes de SR para 1 parte de sedimento. Neste exemplo, 1,4 ml de SR seriam adicionados a 0,7 ml de sedimento. Estes volumes aumentam num rácio de 2 partes de SR para 1 parte de sedimento.

1. Transfira 0,5 ml do total do pellet ressuspensionado para um tubo cónico com tampa de rosca rotulado com a ID da amostra e/ou do paciente utilizando uma pipeta de transferência.

Nota Conserve os sedimentos ressuspensionados entre 2 °C e 8 °C, caso não sejam processados de imediato. Não conserve durante mais de 7 dias.

2. Adicione 1,5 ml de reagente de amostra (SR) a 0,5 ml do sedimento ressuspensionado.
3. Agite vigorosamente 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.

Nota Um movimento para a frente e para trás corresponde a uma única agitação.

4. Incube durante 10 minutos à temperatura ambiente e, depois, agite vigorosamente a amostra 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.
5. Proceda à incubação da amostra à temperatura ambiente durante mais 5 minutos.

12.3 Preparação do cartucho

Importante Certifique-se de que tem um módulo pronto para aceitar o cartucho. Inicie o teste logo que possível e no prazo de 2,5 horas desde a adição da amostra tratada com reagente de amostra ao cartucho ou no prazo de 4 horas se conservado entre 2 °C e 8 °C.

Obtenha os seguintes itens: cartucho Xpert, pipeta de transferência (fornecida) e uma amostra de teste corretamente colhida e rotulada.

1. Retire um cartucho da embalagem.
2. Inspeccione o cartucho para verificar se existem danos. Não utilize se estiver danificado.
3. Aguarde até que o cartucho atinja a temperatura ambiente. Identifique cada cartucho Xpert MTB/XDR com a ID da amostra. Ver Figura 4.



Figura 4. Escreva na parte lateral do cartucho.

Nota Escreva na parte lateral do cartucho ou coloque um rótulo de identificação. Não coloque o rótulo na tampa do cartucho nem sobre o código de barras 2D existente no mesmo.

4. Abra a tampa do cartucho e depois abra o recipiente da amostra.
5. Usando a pipeta de transferência fornecida, aspire a amostra liquefeita até à linha na pipeta. Não prossiga com o processamento da amostra no caso de o volume ser insuficiente. Ver Figura 5.



Figura 5. Aspirar até à linha na pipeta

6. Distribua a amostra lentamente para minimizar o risco de formação de aerossol. Ver Figura 6.



Figura 6. Cartucho Xpert MTB/XDR

7. Feche a tampa do cartucho.

12.4 Iniciar o teste

Importante Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio Xpert MTB/XDR foi importado para o software. Esta secção discrimina os passos básicos para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

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

1. Ligue o instrumento GeneXpert:
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. O software GeneXpert Dx iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do sistema GeneXpert Dx, clique em **Criar teste (Create Test)**. Aparece a janela **Criar teste (Create Test)**.
4. Leia a ID do paciente (Patient ID) ou a ID da amostra (Sample ID), ou digite a ID do paciente (Patient ID) ou 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 apresentada do lado esquerdo da janela **Ver resultados (View Results)** e está associada aos resultados de teste.
5. Leia o código de barras do cartucho Xpert MTB/XDR. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: **ID lote de reagente (Reagent Lot ID)**, **S/N do cartucho (Cartridge S/N)** e **Prazo de validade (Expiration Date)**. Ver Figura 7.

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

Criar teste

ID do paciente: John Smith

ID da amostra: CPH123-01

Nome: Seleccionar ensaio: Xpert MTB/XDR IVD Versão: 1

Seleccionar módulo: A1

ID lote de reagente: 00503 Prazo de validade: 2090/12/24 N/S do cartucho: 0384099858

Tipo de teste: Amostra

Tipo de amostra: De outros Outro tipo de amostra: _____

Notas: _____

Iniciar teste Ler código de barras do cartucho Cancelar

Figura 7. Janela Criar teste (Create Test) do GX Dx

6. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Digite a sua palavra-passe na caixa de diálogo que surge.
7. No caso do instrumento GeneXpert Dx:
 - a) Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
 - b) Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
 - c) Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e retirar o cartucho.
8. Elimine os cartuchos usados nos recipientes para resíduos de amostras apropriados, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

13 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções mais detalhadas sobre como visualizar e imprimir os resultados, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual (Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx)* ou o *GeneXpert Infinity System Operator Manual (Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity)*, dependendo do modelo utilizado.

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 Controlos de qualidade integrados

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

- **Controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC)** — O SPC verifica 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 de PCR (temperatura e tempo) são adequadas 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 atribuídos.

- **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. O PCC é aprovado se preencher os critérios de aceitação atribuídos.
- **Controlo de adequação do volume da amostra (SVA)**—Antes do processamento da amostra, o sistema GeneXpert faz uma medição para confirmar se o volume adequado de amostra está presente na câmara da amostra. Se o controlo SVA falhar, quer dizer que não foi adicionado o volume adequado de amostra para testar à câmara da amostra.

Controlos externos—podem ser utilizados controlos externos de acordo com organizações de acreditação locais, nacionais e europeias, consoante aplicável.

15 Interpretação dos resultados

O GeneXpert Instrument Systems gera os resultados a partir de uma combinação de sinais de fluorescência e valores de temperatura de fusão (T_m) medidos. O sistema GeneXpert deteta mutações e sequências do tipo selvagem utilizando os valores de T_m . A determinação da suscetibilidade ou resistência depende da zona onde os valores da T_m vão cair na janela do tipo selvagem ou mutante, respetivamente, para um analito em particular. Os resultados positivos para o teste Xpert MTB/XDR podem ser **MTB DETETADO (MTB DETECTED)** e todos os alvos da resistência são **NÃO DETETADO (NOT DETECTED)** ou **MTB DETETADO (MTB DETECTED)** e um ou mais dos alvos da resistência é **DETETADO (DETECTED)** ou **MTB DETETADO (MTB DETECTED)** e/ou um ou mais dos seguintes alvos é **INDETERMINADO (INDETERMINATE)**. Ver a Tabela 2 para obter uma lista dos resultados possíveis para cada alvo.

Tabela 2. Resultados possíveis para cada alvo no teste Xpert MTB/XDR

Classe de fármaco	Resultado atribuído
N/A	INVÁLIDO/ERRO/SEM RESULTADO (INVALID/ERROR/NO RESULT)
	MTB DETETADO (MTB DETECTED)
	MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)
Isoniazida	Resistência reduzida a INH DETETADA (Low INH Resistance DETECTED)
	Resistência a INH DETETADA (INH Resistance DETECTED)
	Resistência a INH NÃO DETETADA (INH Resistance NOT DETECTED)
	Resistência à INH INDETERMINADA (INH Resistance INDETERMINATE)
Fluoroquinolona	Resistência reduzida a FLQ DETETADA (Low FLQ Resistance DETECTED)
	Resistência a FLQ DETETADA (FLQ Resistance DETECTED)
	Resistência a FLQ NÃO DETETADA (FLQ Resistance NOT DETECTED)
	Resistência à FLQ INDETERMINADA (FLQ Resistance INDETERMINATE)
Amicacina	Resistência a AMK DETETADA (AMK Resistance DETECTED)
	Resistência a AMK NÃO DETETADA (AMK Resistance NOT DETECTED)
	Resistência a AMK INDETERMINADA (AMK Resistance INDETERMINATE)
Canamicina	Resistência a KAN DETETADA (KAN Resistance DETECTED)
	Resistência a KAN NÃO DETETADA (KAN Resistance NOT DETECTED)
	Resistência à KAN INDETERMINADA (KAN Resistance INDETERMINATE)
Capreomicina	Resistência a CAP DETETADA (CAP Resistance DETECTED)
	Resistência a CAP NÃO DETETADA (CAP Resistance NOT DETECTED)
	Resistência a CAP INDETERMINADA (CAP Resistance INDETERMINATE)

Classe de fármaco	Resultado atribuído
O ensaio, devido à sua concepção, não irá gerar um resultado indeterminado por Etionamida ^a .	Resistência a ETH DETETADA (ETH Resistance DETECTED)
	Resistência a ETH NÃO DETETADA (ETH Resistance NOT DETECTED)

a

A Tabela 3 resume os genes-alvo do teste Xpert MTB/XDR e a região do codão e os nucleótidos abrangidos para cada um dos genes interrogados para identificar ou inferir a resistência a fármacos.

Tabela 3. Regiões determinantes da resistência a fármacos interrogadas

Fármaco	Gene-alvo	Regiões do codão	Nucleótido
Isoniazida	Promotor do <i>inhA</i>	NA	Intergénica -1 a -32
	<i>katG</i>	311-319	939-957
	<i>fabG1</i>	199-210	597-630
	região intergénica <i>oxyR-ahpC</i>	NA	Intergénica -5 a -50 (ou -47 a -92) ^{12,13}
Etionamida	Promotor do <i>inhA</i>	NA	Intergénica -1 a -32
Fluoroquinolonas	<i>gyrA</i>	87-95	261-285
	<i>gyrB</i>	531-544 (ou 492-505) ^{12,14}	1596-1632
Amicacina, canamicina, capreomicina	<i>rrs</i>	NA	1396-1417
	promotor do <i>eis</i>	NA	Intergénica -6 a -42

Consulte a Tabela 4 para obter exemplos de resultados possíveis e a sua interpretação correspondente. A Figura 8 até à Figura 16 são exemplos de resultados possíveis do teste Xpert MTB/XDR.

Tabela 4. Exemplos de resultados do Xpert MTB/XDR e respetiva interpretação

Resultado	Interpretação
MTB DETETADO (MTB DETECTED); Resistência a INH NÃO DETETADA (INH Resistance NOT DETECTED) Resistência a FLQ NÃO DETETADA (FLQ Resistance NOT DETECTED) Resistência a AMK NÃO DETETADA (AMK Resistance NOT DETECTED) Resistência a KAN NÃO DETETADA (KAN Resistance NOT DETECTED) Resistência a CAP NÃO DETETADA (CAP Resistance NOT DETECTED) Resistência a ETH NÃO DETETADA (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Não foram detetadas mutações que resultam em resistência à INH, FLQs, AMK, KAN, CAP ou ETH. • SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controlo. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MTB DETETADO (MTB DETECTED); Resistência a INH DETETADA (INH Resistance DETECTED) Resistência a FLQ DETETADA (FLQ Resistance DETECTED) Resistência a AMK DETETADA (AMK Resistance DETECTED) Resistência a KAN DETETADA (KAN Resistance DETECTED) Resistência a CAP DETETADA (CAP Resistance DETECTED) Resistência a ETH DETETADA (ETH Resistance DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à INH num ou mais dos seguintes genes: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, região intergénica <i>oxyR-ahpC</i> e promotor do <i>inhA</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência às FLQ num ou mais dos seguintes genes: regiões determinantes da resistência à quinolona (QRDR) <i>gyrA</i> e <i>gyrB</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à AMK num ou mais dos seguintes genes: gene <i>rrs</i> e promotor do <i>eis</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à KAN num ou mais dos seguintes genes: gene <i>rrs</i> e promotor do <i>eis</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à CAP no seguinte gene: gene <i>rrs</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à ETH no seguinte gene: promotor do <i>inhA</i> • SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controlo. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MTB DETETADO (MTB DETECTED); Resistência a INH DETETADA (INH Resistance DETECTED) Resistência a FLQ NÃO DETETADA (FLQ Resistance NOT DETECTED) Resistência a AMK NÃO DETETADA (AMK Resistance NOT DETECTED) Resistência a KAN NÃO DETETADA (KAN Resistance NOT DETECTED) Resistência a CAP NÃO DETETADA (CAP Resistance NOT DETECTED) Resistência a ETH NÃO DETETADA (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Não foram detetadas mutações que resultam em resistência às FLQs, AMK, KAN, CAP e ETH. • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à INH num ou mais dos seguintes genes: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, região intergénica <i>oxyR-ahpC</i> • SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controlo. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Resultado	Interpretação
MTB DETETADO (MTB DETECTED); Resistência a INH DETETADA (INH Resistance DETECTED) Resistência à FLQ INDETERMINADA (FLQ Resistance INDETERMINATE) Resistência a AMK NÃO DETETADA (AMK Resistance NOT DETECTED) Resistência a KAN NÃO DETETADA (KAN Resistance NOT DETECTED) Resistência a CAP NÃO DETETADA (CAP Resistance NOT DETECTED) Resistência a ETH NÃO DETETADA (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Não foram detetadas mutações que resultam em resistência à AMK, KAN, CAP e ETH. ● Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à INH num ou mais dos seguintes genes: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, região intergénica <i>oxyR-ahpC</i> ● Não foi possível determinar a existência de mutações que contribuem para a resistência às FLQ, devido à deteção de apenas Tm do tipo selvagem com uma ou mais sondas e à ausência de Tm com uma ou mais sondas direcionadas para um ou mais dos seguintes genes: <i>gyrA</i> ou <i>gyrB</i>. “OU” nenhuma Tm com qualquer uma das sondas direcionadas para os genes <i>gyrA</i> e <i>gyrB</i>. ● SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controlo. ● Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MTB DETETADO (MTB DETECTED); Resistência reduzida a INH DETETADA (Low INH Resistance DETECTED) Resistência a FLQ NÃO DETETADA (FLQ Resistance NOT DETECTED) Resistência à AMK NÃO DETETADA (AMK Resistance NOT DETECTED) Resistência à KAN NÃO DETETADA (KAN Resistance NOT DETECTED) Resistência a CAP NÃO DETETADA (CAP Resistance NOT DETECTED) Resistência à ETH DETETADA (ETH Resistance DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Não foram detetadas mutações que resultam em resistência às FLQ, AMK, KAN e CAP. ● Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência reduzida à INH na região promotora do <i>inhA</i> ● Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à ETH na região promotora do <i>inhA</i> ● SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controlo. ● Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MTB DETETADO (MTB DETECTED); Resistência a INH NÃO DETETADA (INH Resistance NOT DETECTED) Resistência reduzida a FLQ DETETADA (Low FLQ Resistance DETECTED) Resistência a AMK NÃO DETETADA (AMK Resistance NOT DETECTED) Resistência a KAN NÃO DETETADA (KAN Resistance NOT DETECTED) Resistência a CAP NÃO DETETADA (CAP Resistance NOT DETECTED) Resistência a ETH NÃO DETETADA (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente na amostra; foi detetado um nível reduzido de resistência às FLQ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Não foram detetadas mutações que resultam em resistência à INH AMK, KAN, CAP e ETH. ● Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência reduzida às FLQ nos seguintes genes: <i>gyrA</i> ● SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controlo. ● Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Resultado	Interpretação
MTB DETETADO (MTB DETECTED); Resistência a INH DETETADA (INH Resistance DETECTED) Resistência a FLQ NÃO DETETADA (FLQ Resistance NOT DETECTED) Resistência a AMK DETETADA (AMK Resistance DETECTED) Resistência a KAN DETETADA (KAN Resistance DETECTED) Resistência a CAP DETETADA (CAP Resistance DETECTED) Resistência a ETH NÃO DETETADA (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Não foram detetadas mutações que resultam em resistência às FLQ e ETH. • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à INH num ou mais dos seguintes genes: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, <i>oxyR-ahpC</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à AMK num ou mais dos seguintes genes: gene <i>rrs</i>; promotor do <i>eis</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à KAN num ou mais dos seguintes genes: gene <i>rrs</i>; promotor do <i>eis</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à CAP no seguinte gene: gene <i>rrs</i> • SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controlo. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MTB DETETADO (MTB DETECTED); Resistência a INH DETETADA (INH Resistance DETECTED) Resistência reduzida a FLQ DETETADA (Low FLQ Resistance DETECTED) Resistência a AMK NÃO DETETADA (AMK Resistance NOT DETECTED) Resistência a KAN DETETADA (KAN Resistance DETECTED) Resistência a CAP NÃO DETETADA (CAP Resistance NOT DETECTED) Resistência a ETH NÃO DETETADA (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Não foram detetadas mutações que resultam em resistência à AMK, CAP e ETH. • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à INH num ou mais dos seguintes genes: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, região intergénica <i>oxyR-ahpC</i> e promotor do <i>inhA</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência reduzida às FLQ no seguinte gene: <i>gyrA</i> • Foram detetadas mutações que contribuem para a resistência à KAN na região promotora do <i>eis</i> • SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controlo. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)	<p>O alvo de MTB não é detetado dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: APROVADO (PASS). O SPC preenche os critérios de aceitação. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
INVÁLIDO (INVALID)	<p>Não foi possível determinar a presença ou ausência do MTB. O SPC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida. Repita o teste. Consulte a secção Secção 16.2. Procedimento de repetição do teste deste documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: INVÁLIDO (INVALID). Não foi possível determinar a presença ou ausência de ADN de MTB. • SPC: NÃO APROVADO (FAIL). O resultado do alvo de MTB é negativo, e o limiar de ciclo (Ct) do SPC não se encontra dentro de um intervalo válido. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Resultado	Interpretação
ERRO (ERROR)	<p>Não foi possível determinar a presença ou ausência do MTB. Repita o teste. Consulte a secção Secção 16.2. Procedimento de repetição do teste deste documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda: NÃO APROVADO (FAIL). Todos ou um dos resultados da verificação da sonda falharam. <hr/> <p>Nota Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro pode ser causado pela falha de um dos componentes do sistema, erro do operador ou problema de integridade do cartucho.</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>Não foi possível determinar a presença ou ausência do MTB. Repita o teste. Consulte a secção Secção 16.2. Procedimento de repetição do teste deste documento. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados recolhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda: NA (Não Aplicável)

Nota As figuras seguintes fornecem resultados representativos, incluindo o separador do pico de fusão, que podem ser esperados com o teste Xpert MTB/XDR na vista detalhada de utilizador do GeneXpert Dx. Não são apresentadas todas as combinações de resultados possíveis.

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do ensaio	MTB-XDR	Versão	3			
Resultado	MTB DETECTADO; INH Resistance NÃO DETECTADO; FLO Resistance NÃO DETECTADO; AMK Resistance NÃO DETECTADO; KAN Resistance NÃO DETECTADO; CAP Resistance NÃO DETECTADO; ETH Resistance NÃO DETECTADO					
Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
	Nome do analito		Fusão Pico Temperatura			Fusão Pico Altura
	inhA-melt		76,3			292,5
	katG-melt		73,8			107,0
	fabG1-melt		71,5			242,0
	ahpC-melt		68,7			41,3
	gyrA1-melt		76,2			73,9
	gyrA2-melt		70,4			75,8
	gyrA3-melt		71,0			129,8
	gyrB2-melt		69,5			77,8
	rrs-melt		75,0			188,7
	eis-melt		68,5			145,3
	inhA-mut melt					
	katG-mut melt					
	fabG1-mut melt					
	ahpC-mut melt					
	gyrA1-mutA melt					
	gyrA1-mutB melt					
	gyrA1-mutC melt					
	gyrA2-mutA melt					
	gyrA2-mutB melt					
	gyrA3-mutA melt					
	gyrA3-mutB melt					
	gyrA3-mutC melt					
	gyrB2-mut melt					
	rrs-mut melt					
	eis-mutA melt					
	eis-mutB melt					

Figura 8. MTB DETETADO; Resistência a INH, FLQ, AMK, KAN, CAP e ETH NÃO DETETADA

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do ensaio	MTB-XDR	Versão	3			
Resultado	MTB DETECTADO; INH Resistance DETECTADO; FLQ Resistance DETECTADO; AMK Resistance DETECTADO; KAN Resistance DETECTADO; CAP Resistance DETECTADO; ETH Resistance DETECTADO					

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
	Nome do analito		Fusão Pico Temperatura			Fusão Pico Altura
	inhA-melt					
	katG-melt					
	fabG1-melt					
	ahpC-melt					
	gyrA1-melt			76,1		90,0
	gyrA2-melt			69,6		39,7
	gyrA3-melt					
	gyrB2-melt					
	rrs-melt					
	eis-melt					
	inhA-mut melt			70,9		259,6
	katG-mut melt			68,4		214,0
	fabG1-mut melt			75,9		181,1
	ahpC-mut melt			66,2		68,2
	gyrA1-mutA melt					
	gyrA1-mutB melt					
	gyrA1-mutC melt					
	gyrA2-mutA melt					
	gyrA2-mutB melt					
	gyrA3-mutA melt					
	gyrA3-mutB melt			76,0		125,0
	gyrA3-mutC melt					
	gyrB2-mut melt			66,0		103,2
	rrs-mut melt			71,0		125,7
	eis-mutA melt			71,4		163,9
	eis-mutB melt					

Figura 9. MTB DETETADO; Resistência a INH, FLQ, AMK, KAN, CAP e ETH DETETADA

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do ensaio MTB-XDR Versão 3						
Resultado	MTB DETECTADO; INH Resistance DETECTADO; FLQ Resistance NÃO DETECTADO; AMK Resistance NÃO DETECTADO; KAN Resistance NÃO DETECTADO; CAP Resistance NÃO DETECTADO; ETH Resistance NÃO DETECTADO;					
Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
	Nome do analito		Fusão Pico Temperatura		Fusão Pico Altura	
	inhA-melt		76,6		284,9	
	katG-melt		74,0		105,2	
	fabG1-melt					
	ahpC-melt		69,0		35,4	
	gyrA1-melt		76,6		65,2	
	gyrA2-melt		70,4		64,9	
	gyrA3-melt		71,4		92,2	
	gyrB2-melt		69,7		84,7	
	rrs-melt		75,3		146,8	
	eis-melt		68,7		124,2	
	inhA-mut melt					
	katG-mut melt					
	fabG1-mut melt		75,9		178,0	
	ahpC-mut melt					
	gyrA1-mutA melt					
	gyrA1-mutB melt					
	gyrA1-mutC melt					
	gyrA2-mutA melt					
	gyrA2-mutB melt					
	gyrA3-mutA melt					
	gyrA3-mutB melt					
	gyrA3-mutC melt					
	gyrB2-mut melt					
	rrs-mut melt					
	eis-mutA melt					
	eis-mutB melt					

Figura 10. MTB DETETADO Resistência à INH DETETADA

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do ensaio	MTB-XDR	Versão	4			
Resultado	MTB DETECTADO; INH Resistance DETECTADO; FLQ Resistance NÃO DETECTADO; AMK Resistance INDETERMINADO; KAN Resistance DETECTADO; CAP Resistance INDETERMINADO; ETH Resistance DETECTADO					
Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
	Nome do analito		Fusão Pico Temperatura			Fusão Pico Altura
	inhA-melt					
	katG-melt					
	fabG1-melt			71,5		254,6
	ahpC-melt			68,7		49,4
	gyrA1-melt			76,3		62,9
	gyrA2-melt			70,2		59,8
	gyrA3-melt			71,5		56,5
	gyrB2-melt			69,4		74,8
	rrs-melt					
	eis-melt					
	inhA-mut melt			70,9		277,7
	katG-mut melt			68,2		157,7
	fabG1-mut melt					
	ahpC-mut melt					
	gyrA1-mutA melt					
	gyrA1-mutB melt					
	gyrA1-mutC melt					
	gyrA2-mutA melt					
	gyrA2-mutB melt					
	gyrA3-mutA melt					
	gyrA3-mutB melt					
	gyrA3-mutC melt					
	gyrB2-mut melt					
	rrs-mut melt					
	eis-mutA melt					
	eis-mutB melt			62,6		46,5

Figura 11. MTB DETETADO; Resistência à INH e KAN DETETADA; AMK e CAP INDETERMINADA

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do ensaio MTB-XDR Versão 3						
Resultado						
MTB DETECTADO; INH Resistance DETECTADO; Low FLQ Resistance DETECTADO; AMK Resistance NÃO DETECTADO; KAN Resistance NÃO DETECTADO; CAP Resistance NÃO DETECTADO; ETH Resistance NÃO DETECTADO						
Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do analito		Fusão Pico Temperatura		Fusão Pico Altura		
inhA-melt			76,5			313,1
katG-melt						
fabG1-melt			71,7			211,5
ahpC-melt			69,0			47,2
gyrA1-melt						
gyrA2-melt						
gyrA3-melt						
gyrB2-melt			69,6			81,1
rrs-melt			75,2			248,1
eis-melt			68,8			158,2
inhA-mut melt						
katG-mut melt			68,4			184,6
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt			72,3			125,0
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt			76,0			207,9
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt			76,5			128,0
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Figura 12. MTB DETETADO; Resistência reduzida a FLQ e resistência à INH DETETADAS

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do ensaio MTB-XDR Versão 3						
Resultado MTB DETECTADO; INH Resistance DETECTADO; FLQ Resistance DETECTADO; AMK Resistance DETECTADO; KAN Resistance DETECTADO; CAP Resistance NÃO DETECTADO; ETH Resistance NÃO DETECTADO						
Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
	Nome do analito		Fusão Pico Temperatura			Fusão Pico Altura
	inhA-melt		76,6			278,9
	katG-melt					
	fabG1-melt		71,7			226,6
	ahpC-melt		69,0			42,9
	gyrA1-melt					
	gyrA2-melt					
	gyrA3-melt					
	gyrB2-melt		69,8			68,7
	rrs-melt		75,3			198,7
	eis-melt					
	inhA-mut melt					
	katG-mut melt		68,5			204,1
	fabG1-mut melt					
	ahpC-mut melt					
	gyrA1-mutA melt					
	gyrA1-mutB melt		72,9			88,0
	gyrA1-mutC melt					
	gyrA2-mutA melt					
	gyrA2-mutB melt					
	gyrA3-mutA melt					
	gyrA3-mutB melt					
	gyrA3-mutC melt		69,1			113,4
	gyrB2-mut melt					
	rrs-mut melt					
	eis-mutA melt		71,6			183,4
	eis-mutB melt					

Figura 13. MTB DETETADO; Resistência a INH, FLQ, AMK e KAN DETETADA

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do ensaio		MTB-XDR		Versão 3		
Resultado		MTB NÃO DETECTADO				
Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do analito		Fusão Pico Temperatura	Fusão Pico Altura			
inhA-melt						
katG-melt						
fabG1-melt						
ahpC-melt						
gyrA1-melt						
gyrA2-melt						
gyrA3-melt						
gyrB2-melt						
rrs-melt						
eis-melt						
inhA-mut melt						
katG-mut melt						
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Figura 14. MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do ensaio		MTB-XDR	Versão 3			
Resultado		INVÁLIDO				
Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do analito		Fusão Pico Temperatura		Fusão Pico Altura		
inhA-melt			76,8			102,1
katG-melt						
fabG1-melt			71,7			53,1
ahpC-melt			69,1			34,9
gyrA1-melt			76,6			71,4
gyrA2-melt						
gyrA3-melt			71,5			40,7
gyrB2-melt			70,2			38,9
rrs-melt						
eis-melt			68,6			109,4
inhA-mut melt						
katG-mut melt			68,5			49,4
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Figura 15. INVÁLIDO (INVALID)

Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do ensaio		MTB-XDR		Versão 3		
Resultado		ERRO				
Resultado	Resultado do analito	Detalhe	Picos de fusão	Erros	Histórico	Assistência
Nome do analito		Fusão Pico Temperatura		Fusão Pico Altura		
inhA-melt						
katG-melt						
fabG1-melt						
ahpC-melt						
gyrA1-melt						
gyrA2-melt						
gyrA3-melt						
gyrB2-melt						
rrs-melt						
eis-melt						
inhA-mut melt						
katG-mut melt						
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Figura 16. ERRO (ERROR)

16 Repetição de um teste

16.1 Motivos para repetir o teste

Se ocorrer algum dos resultados de teste mencionados a seguir, repita o teste de acordo com as instruções da Secção 16.2. Procedimento de repetição do teste.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente, a PCR foi inibida ou a amostra não foi devidamente colhida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** pode dever-se, entre outras causas, a falha do controlo de verificação da sonda ou de se ultrapassarem os limites máximos de pressão.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que foram colhidos dados insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.
- Um resultado **INDETERMINADO (INDETERMINATE)** indica que a resistência a um determinado fármaco não pôde ser determinada inequivocamente com base no algoritmo do ensaio (ver Secção 17. Limitações para mais explicações). A repetição do teste com uma amostra diferente poderá ter ou não um resultado diferente.

16.2 Procedimento de repetição do teste

Para a repetição de um teste, utilize um cartucho novo (não reutilize cartuchos). Se tiver expetoração remanescente (deve ser $\geq 1,0$ ml) ou sedimento reconstituído (deve ser $\geq 0,5$ ml), use sempre SR novo para descontaminar e liquefazer a expetoração antes de executar o teste. Siga as instruções de processamento de amostras segundo a Secção 12.1. Procedimento para expetoração não processada ou a Secção 12.2. Procedimento para sedimentos de expetoração concentrados e descontaminados.

Se tiver disponível amostra tratada com SR remanescente em quantidade suficiente que tenha sido conservada durante um máximo de 2,5 horas até 35 °C ou um máximo de 4 horas entre 2 °C e 8 °C desde a adição inicial de SR à amostra, a amostra tratada com SR remanescente pode ser processada usando um cartucho novo. Para repetir um teste, utilize sempre um cartucho novo e inicie o teste no prazo de 30 minutos a contar da adição da amostra processada ao cartucho. Ver Secção 12.3. Preparação do cartucho.

17 Limitações

- O desempenho do teste Xpert MTB/XDR foi validado utilizando os procedimentos detalhados neste folheto informativo. As modificações do procedimento de teste para XDR devem ser interpretadas em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos à disposição do médico.
- O desempenho do teste Xpert MTB/XDR está dependente da proficiência e adesão do operador aos procedimentos do teste. Os erros do procedimento do teste podem provocar resultados falsos-positivos ou falsos-negativos. Todos os operadores do dispositivo devem ter formação adequada para utilização do dispositivo e do teste.
- Os resultados do teste devem ser interpretados por um profissional de saúde qualificado em conjunto com a história clínica dos pacientes, os sinais e sintomas clínicos e os resultados de outros testes de diagnóstico.
- Como a detecção de ADN do complexo MTB depende do número de organismos presentes na amostra, os resultados fidedignos do teste dependem da correta colheita, manuseamento e conservação da amostra. Podem ocorrer resultados de teste errados devido a colheita de amostra incorreta, não efetuada de acordo com o procedimento recomendado para colheita, manuseamento e conservação da amostra, erro técnico, troca de amostras ou porque a concentração no material inicial era insuficiente. O cumprimento cuidadoso das instruções deste folheto é necessário para evitar resultados errados.
- Os resultados dos testes poderão ser afetados por terapêutica antibiótica concomitante ou anterior. Por conseguinte, o sucesso ou insucesso terapêutico não pode ser avaliado com este teste porque o ADN pode persistir após a terapêutica antituberculose.
- Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de microrganismos viáveis. Contudo, permite presumir a presença de ADN do complexo MTB, incluindo mutações associadas à resistência à INH, FLQ, AMK, KAN, CAP e ETH.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do primer ou da sonda podem afetar a detecção de estirpes novas ou desconhecidas de XDR-MTB, originando resultados de sensibilidade a fármacos.
- O teste Xpert MTB/XDR não confirma a suscetibilidade à INH, FLQ, AMK, KAN, CAP e ETH, pois podem existir mecanismos de resistência para além dos detetados por este teste, os quais podem estar associados à falta de resposta clínica ao tratamento.
- A testagem de sangue, líquido cefalorraquidiano (LCR), aspirado gástrico, fezes, tecidos e urina não foi avaliada para utilização no teste Xpert MTB/XDR.
- Embora não tenham sido incluídas amostras de expetoração induzida na avaliação do desempenho clínico do teste Xpert MTB/XDR, foram testadas soluções isotónicas e hipertónicas, broncodilatadores e broncodilatadores inalados frequentemente utilizados na colheita de expetoração induzida, não tendo interferido no teste. A indução com soro fisiológico pode resultar num número insuficiente de microrganismos recuperados e pode afetar a detecção de *M. tuberculosis*.
- Os sedimentos de expetoração concentrados utilizados para a avaliação do desempenho do teste Xpert MTB/XDR foram preparados segundo o método NALC-NaOH descrito em Kent e Kubica¹¹. A utilização de outros métodos de preparação do sedimento pode alterar o desempenho do teste.
- Um teste negativo não exclui a possibilidade de isolar ADN do complexo MTB a partir de uma amostra de expetoração. O teste Xpert MTB/XDR pode ser utilizado em conjunto com cultura micobacteriana para abordar o risco de resultados falsos-negativos e para recuperar o microrganismo para posterior caracterização e testes de suscetibilidade.
- É de esperar que as amostras com resultados **DETETADO MTB vestigial (MTB Trace DETECTED)** quando testadas com o Xpert MTB/RIF Ultra estejam abaixo do limite de detecção do teste MTB/XDR e não são recomendadas para testagem com o teste Xpert MTB/XDR.
- O teste Xpert MTB/XDR, devido à sua conceção, não efetua a distinção entre as espécies do complexo MTB (ou seja, *MTB*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedi*, *M. mungi* e *M. orygis*). Além disso, tem também de ser efetuada cultura para determinar se está presente uma estirpe NTM para além do complexo MTB.

- Na literatura, foi comunicada uma sensibilidade mais baixa em pacientes pediátricos devido à natureza difusa da infecção pulmonar por MTB neste grupo de pacientes, e a dificuldades encontradas na obtenção de amostras adequadas.^{16,17}
- Infecções mistas com MTB e *M. marinum* podem dar resultados **INDETERMINADO (INDETERMINATE)** para a FLQ a $> 10^4$ UFC/ml de *M. marinum* na presença de ≤ 408 UFC/ml de MTB.
- Em casos raros, os primers e as sondas *rrs* podem ter reatividade cruzada com micróbios ambientais e a microflora da expetoração, o que pode causar resultados **INDETERMINADO (INDETERMINATE)** para a AMK, KAN e CAP.
- O teste Xpert MTB/XDR determina a resistência à ETH associada apenas a mutações na região promotora do *inhA*. A ausência de mutações na região promotora do *inhA* não exclui a resistência à ETH. As mutações que conferem resistência à ETH foram notificadas como estando presentes em regiões genômicas não visadas pelo teste Xpert MTB/XDR.¹⁵
- A associação de mutações nos genes *oxyR-ahpC* e *gyrB* com a resistência à INH e FLQ, respetivamente, ainda não foi estabelecida de forma conclusiva; contudo, estudos publicados comunicaram que estas mutações são encontradas em estirpes com resistência à INH e FLQ.^{18,19}
- A presença de deleções ou mutações raras em qualquer um dos genes-alvo pode levar a resultados **INDETERMINADO (INDETERMINATE)** para um determinado fármaco.
- No caso de amostras com uma população mista de estirpes suscetíveis e resistentes, existe uma probabilidade de que o teste Xpert MTB/XDR não detete a mutação, se a população resistente estiver presente com níveis indetetáveis pelo teste.
- Em amostras com muito baixa carga bacteriana ou uma mistura de estirpes suscetíveis e resistentes, o teste Xpert MTB/XDR poderá não conseguir distinguir de forma fiável entre resistência alta e baixa às FLQ.

18 Desempenho clínico

Foram realizados dois estudos clínicos. O desempenho clínico do teste Xpert MTB/XDR foi estimado com amostras de expetoração não processada e de sedimento de expetoração concentrado, colhidas retrospectivamente, congeladas e arquivadas, no estudo clínico 1 e com amostras de expetoração prospetivas e cultura em MGIT no estudo clínico 2.

18.1 Amostras de expetoração

Foi realizado um estudo clínico em ocultação para avaliar o desempenho do teste Xpert MTB/XDR relativamente aos métodos microbiológicos e moleculares de referência, ou seja, testes fenotípicos de suscetibilidade a fármacos (TSAf) e sequenciação, respetivamente, para a deteção de resistência à INH, ETH, FLQ e SLID (AMK, KAN e CAP). Para além disso, o desempenho clínico do teste Xpert MTB/XDR foi comparado com o do ensaio Xpert MTB/RIF ou do Xpert MTB/RIF Ultra para a deteção de MTB. Dois locais com elevada prevalência conhecida para MDR e XDR TB forneceram amostras de expetoração arquivadas e congeladas não processadas ou de sedimento de expetoração concentrado, que se sabe serem positivas ou negativas por cultura de MTB

A Tabela 5 mostra a sensibilidade e especificidade do teste Xpert MTB/XDR relativas a TSAf para farmacoresistência. A sensibilidade foi $>90\%$ para INH, FLQ e AMK, $>85\%$ para KAN e CAP, e $>64\%$ para ETH; a especificidade foi $>98\%$ para todos os fármacos.

Tabela 5. Xpert MTB/XDR vs. TSAf para farmacoresistência (amostras retrospectivas)

Fármacos	N	VP	FN	VN	FP	Sensibilidade (%)	IC de 95%	Especificidade (%)	IC de 95%
INH	478	244	23	209	2	91,4	87,4–94,2	99,1	96,6–99,7
FLQ	417	148	11	254	4	93,1	88,0–96,1	98,5	96,1–99,4
AMK	405	79	7	317	2	91,9	84,1–96,0	99,4	97,7–99,8
KAN	343	58	8	276	1	87,9	77,9–93,7	99,6	98,0–99,9
CAP	167	21	4	142	0	84,0	65,3–93,6	100,0	97,4–100,0
ETH	230	75	41	112	2	64,7 ^a	55,6–72,8	98,3	93,8–99,5

^a A notificação da resistência a ETH baseia-se unicamente na deteção de mutações do promotor do *inhA*, o que resulta numa menor sensibilidade.

A Tabela 6 mostra a sensibilidade e especificidade do teste Xpert MTB/XDR relativamente à sequenciação para farmacoresistência. A sensibilidade foi >93% para FLQ e superior a 96% para INH, AMK, KAN, CAP e ETH; a especificidade foi de 100,0% para todos os fármacos listados na tabela, exceto para a INH que foi de 98,7%.

Tabela 6. Xpert MTB/XDR vs. sequenciação para farmacoresistência (amostras retrospectivas)

Fármacos	N	VP	FN	VN	FP	Sensibilidade (%)	IC de 95%	Especificidade (%)	IC de 95%
INH	471	241	3	224	3	98,8	96,5–99,6	98,7	96,2–99,5
FLQ	469	152	11	306	0	93,3	88,3–96,2	100,0	98,8–100,0
AMK	463	81	3	379	0	96,4	90,0–98,8	100,0	99,0–100,0
KAN	463	88	3	372	0	96,7	90,8–98,9	100,0	99,0–100,0
CAP	463	78	3	382	0	96,3	89,7–98,7	100,0	99,0–100,0
ETH	473	104	3	366	0	97,2	92,1–99,0	100,0	99,0–100,0

A Tabela 7 mostra a concordância positiva percentual (CPP) e a concordância negativa percentual (CNP) do teste Xpert MTB/XDR em relação ao ensaio Xpert MTB/RIF para deteção de MTB como sendo de 98,9% e 93,8%, respetivamente.

Tabela 7. Xpert MTB/XDR vs. ensaio Xpert MTB/RIF para deteção de MTB

		Xpert MTB/RIF Ensaio		
		MTB detetado (MTB detected)	MTB não detetado (MTB not detected)	Total
Xpert MTB/XDR	MTB detetado (MTB detected)	273	2 ^a	275
	MTB não detetado (MTB not detected)	3 ^b	30	33
	Total	276	32	308
CCP		98,9% (IC de 95%: 96,9–99,6)		
CNP		93,8% (IC de 95%: 79,9–98,3)		

^a Participantes tinham recebido terapêutica para TB prolongada no momento da colheita de amostra.

^b Foram detetadas amostras abaixo do limite de deteção para o teste Xpert MTB/XDR.

A Tabela 8 mostra a CPP e a CNP do teste Xpert MTB/XDR em relação ao Xpert MTB/RIF Ultra para deteção de MTB como sendo de 99,5% e 100,0%, respetivamente.

Tabela 8. Xpert MTB/XDR vs. Xpert MTB/RIF Ultra para deteção de MTB

		Xpert MTB/RIF Ultra		
		MTB detetado (MTB detected)	MTB não detetado (MTB not detected)	Total
Xpert MTB/XDR	MTB detetado (MTB detected)	207	0	207
	MTB não detetado (MTB not detected)	1 ^a	14	15
	Total	208	14	222
CCP		99,5% (IC de 95%: 97,3–99,9)		

	Xpert MTB/RIF Ultra		
	MTB detetado (MTB detected)	MTB não detetado (MTB not detected)	Total
CNP		100,0% (IC de 95%: 78,5–100,0)	

^a O resultado do Xpert MTB/RIF Ultra foi **Detetado MTB vestigial (MTB Trace Detected)**.

Das 531 execuções do teste Xpert MTB/XDR realizadas juntamente com este estudo, 15 deram resultados não determinados [**ERRO (ERROR)**, **INVÁLIDO (INVALID)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**] na primeira tentativa. Após a repetição do teste destas 15 amostras, um resultado continuou não determinado. A taxa de não determinados no teste inicial foi de 2,8% (15/531) e a taxa de não determinados no teste final foi de 0,2% (1/531).

Foi realizado um estudo clínico multicêntrico (estudo clínico 2) para avaliar o desempenho do teste Xpert MTB/XDR em relação a TSAf e sequenciação para a detecção de resistência à INH, ETH, FLQ e SLID (AMK, KAN e CAP) em amostras de expetoração. Foram incluídas amostras de expetoração colhidas prospetivamente de quatro locais com alta prevalência conhecida de TB MDR. Amostras de expetoração não processada e de isolados de cultura em MGIT que se sabia serem positivas por cultura para MTB foram analisadas quanto a farmacorresistência.

A Tabela 9 mostra a sensibilidade e a especificidade do teste Xpert MTB/XDR relativamente a TSAf para todas as farmacorresistências em amostras de expetoração. A sensibilidade foi de >90% para INH, FLQ e KAN, >85% para AMK, >70% para CAP e >50% para ETH. A especificidade foi ≥92% para todos os fármacos.

Tabela 9. Xpert MTB/XDR vs. TSAf para farmacorresistência (amostras prospetivas)

Fármacos	N	VP	FN	VN	FP	Sensibilidade (%)	IC de 95%	Especificidade (%)	IC de 95%
INH	587	452	24	106	5	95,0	92,6–96,6	95,5	89,9–98,1
FLQ	583	203	13	347	20	94,0	90,0–96,4	94,6 ^a	91,7–96,4
AMK	571	54	9	500	8	85,7	75,0–92,3	98,4	96,9–99,2
KAN	573	155	14	372	32	91,7	86,6–95,0	92,1 ^b	89,0–94,3
CAP	573	50	17	503	3	74,6	63,1–83,5	99,4	98,3–99,8
ETH	588	169	148	258	13	53,3 ^c	47,8–58,7	95,2	92,0–97,2

^a Foram detetadas várias amostras com mutações A90V/S91P/D94A no gene *gyrA* como suscetíveis por TSAf e resistentes pelo teste, o que resulta numa menor especificidade.

^b Foram detetadas várias amostras com mutações do promotor *eis* e gene de tipo selvagem *rrs* como suscetíveis por TSAf e resistentes pelo teste, o que resulta numa menor especificidade.

^c A notificação da resistência a ETH baseia-se unicamente na detecção de mutações do promotor do *inhA*, o que resulta numa menor sensibilidade.

A Tabela 10 mostra a sensibilidade e a especificidade do teste Xpert MTB/XDR relativamente a sequenciação para todas as farmacorresistências em amostras de expetoração. A sensibilidade foi de >90% para INH, FLQ e KAN (arredondada de 89,5%), >70% para AMK, >65% para CAP e >95% para ETH. A especificidade foi ≥98% para todos os fármacos.

Tabela 10. Xpert MTB/XDR vs. sequenciação para farmacorresistência (amostras prospetivas)

Fármacos	N	VP	FN	VN	FP	Sensibilidade (%)	IC de 95%	Especificidade (%)	IC de 95%
INH	515	411	17	85	2	96,0	93,7–97,5	97,7	92–99,4
FLQ	513	201	6	303	3	97,1	93,8–98,7	99,0	97,2–99,7
AMK	501	50	18	430	3	73,5	62–82,5	99,3	98–99,8
KAN	503	170	20	308	5	89,5	84,3–93,1	98,4	96,3–99,3
CAP	504	45	23	435	1	66,2	54,3–76,3	99,8	98,7–100

Fármacos	N	VP	FN	VN	FP	Sensibilidade (%)	IC de 95%	Especificidade (%)	IC de 95%
ETH	517	160	6	347	4	96,4	92,3–98,3	98,9	97,1–99,6

18.2 Amostras de MGIT

O estudo clínico multicêntrico (estudo clínico 2) também foi realizado para avaliar o desempenho do teste Xpert MTB/XDR em relação a TSAf e sequenciação para a detecção de resistência à INH, ETH, FLQ e SLID (AMK, KAN e CAP) em amostras positivas para MTB. Foram incluídas amostras de expetoração colhidas prospetivamente de quatro locais com alta prevalência conhecida de TB MDR. Amostras de expetoração não processada e isolados de cultura de MGIT de cada participante foram testados com Xpert MTB/XDR. Após o teste direto com Xpert MTB/XDR, as amostras de expetoração descontaminadas e concentradas foram inoculadas em meio de cultura de MGIT e incubadas para crescimento de MTB positivo. Isolados de cultura de MGIT positivos foram testados utilizando o teste Xpert MTB/XDR. Os isolados de cultura de MGIT foram conservados a 2 C–8 °C antes do teste e a maioria das amostras (96,9%) foi testada dentro de 2 meses após a cultura de MGIT ser positiva.

A Tabela 11 mostra a sensibilidade e especificidade do teste Xpert MTB/XDR relativas a TSAf para toda a farmacoresistência. A sensibilidade foi de >90% para INH, FLQ e KAN, >85% para AMK, >75% para CAP e 55% para ETH. A especificidade foi ≥92% para todos os fármacos.

Tabela 11. Xpert MTB/XDR vs. TSAf para farmacoresistência (cultura de MGIT positiva)

Fármacos	N	VP	FN	VN	FP	Sensibilidade (%)	IC de 95%	Especificidade (%)	IC de 95%
INH	596	459	23	109	5	95,2	92,9–96,8	95,6	90,1–98,1
FLQ	594	208	12	356	18	94,5	90,7–96,9	95,2	92,5–96,9
AMK	593	57	8	520	8	87,7	77,5–93,6	98,5	97,0–99,2
KAN	594	163	11	388	32	93,7	89,0–96,4	92,4 ^a	89,4–94,6
CAP	595	52	17	524	2	75,4	64,0–84,0	99,6	98,6–99,9
ETH	597	177	145	258	17	55,0	49,5–60,3	93,8	90,3–96,1

^a Foram detetadas várias amostras com mutações do promotor eis e gene de tipo selvagem rrs como suscetíveis por TSAf e resistentes pelo teste, o que resulta numa menor especificidade.

A Tabela 12 mostra a sensibilidade e especificidade do teste Xpert MTB/XDR relativamente à sequenciação para farmacoresistência. A sensibilidade foi de >96% para INH, FLQ e ETH, >85% para KAN, >70% para AMK e >62% para CAP. A especificidade foi ≥97% para todos os fármacos.

Tabela 12. Xpert MTB/XDR vs. sequenciação para farmacoresistência (cultura de MGIT positiva)

Fármacos	N	VP	FN	VN	FP	Sensibilidade (%)	IC de 95%	Especificidade (%)	IC de 95%
INH	522	418	15	88	1	96,5	94,4–97,9	98,9	93,9–99,8
FLQ	521	205	5	309	2	97,6	94,5–99,0	99,4	97,7–99,8
AMK	520	52	20	446	2	72,2	61,0–81,2	99,6	98,4–99,9
KAN	520	177	20	319	4	89,8	84,8–93,3	98,8	96,9–99,5
CAP	522	45	27	450	0	62,5	51,0–72,8	100,0	99,2–100,0
ETH	523	167	4	344	8	97,7	94,1–99,1	97,7	95,6–98,8

Das 1211 execuções do teste Xpert MTB/XDR efetuadas neste estudo (606 em amostras de expetoração, 605 em amostras de MGIT), 35 tiveram resultados de taxa de não determinados no teste inicial. Após a repetição do teste destas 35 amostras, dois resultados continuaram não determinados. A taxa de não determinados no teste inicial foi de 2,9% (35/1211) e a taxa de não determinados no teste final foi de 0,2% (2/1211).

19 Desempenho analítico

19.1 Sensibilidade analítica (limite de deteção)

Foram realizados estudos para determinar o limite de deteção (Limit of Detection, LoD) analítico do teste Xpert MTB/XDR com dois lotes de reagentes em três dias de testes. Um resultado positivo para MTB baseia-se na deteção de uma única cópia do alvo do *inhA*. O LoD superior observado por estirpe e por lote, determinado por análise Probit, foi selecionado para verificação. A verificação do LoD estimado asserido foi realizada num lote de reagente durante no mínimo três dias de testes. O LoD foi estabelecido utilizando um membro representativo do complexo MTB, o *Mycobacterium bovis* BCG (*bacilo de Calmette-Guérin*) contaminado numa expetoração não processada negativa para MTB e num sedimento de expetoração concentrado negativo para MTB.

O LoD é a concentração mais baixa reportada em UFC/ml que pode ser distinguida de forma reprodutível a partir de amostras negativas com $\geq 95\%$ de confiança. Foram avaliadas réplicas de 20 entre cinco e oito concentrações com dois lotes de reagente diferentes, ao longo de 3 dias e o LoD foi determinado recorrendo à análise probit.

O LoD mais elevado observado para cada tipo de amostra e lote, tal como determinado por análise probit, foi selecionado para verificação. A verificação da declaração do LoD estimado foi realizada num lote de reagente durante, no mínimo, três dias de testes com uma declaração baseada num mínimo de 19 de 20 réplicas positivas. As estimativas do ponto de LoD em UFC/ml são apresentadas na Tabela 13.

Tabela 13. Sensibilidade analítica (limite de deteção)

Tipo de amostra	Estimativa do ponto de LoD, UFC/ml
Expetoração não processada	136
	86

19.2 Especificidade analítica (exclusividade)

A especificidade analítica do teste Xpert MTB/XDR foi avaliada através da testagem de um painel de 57 microrganismos composto por 21 bactérias, 1 fungo, 7 vírus e 28 micobactérias não tuberculose (NTM) representando agentes patogénicos respiratórios frequentes ou aqueles potencialmente encontrados no trato respiratório e/ou microflora orofaríngea. Foram testadas três réplicas de todas as estirpes de bactérias e de levedura a concentrações $\geq 1 \times 10^6$ UFC/ml. Todos os vírus foram testados a $\geq 1 \times 10^5$ (dose infecciosa para cultura de tecidos) TCID₅₀/ml. Foi testado ADN ou ARN para 2 estirpes de bactérias e 1 fúngica em concentrações $\geq 10^6$ cópias/ml, uma vez que os microrganismos completos não estavam disponíveis ou não podiam ser avaliados devido a restrições de biossegurança. Foram testadas três réplicas de cada vírus em concentrações $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml. A especificidade analítica foi de 100%. Os microrganismos testados estão listados na Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3. Nenhum dos microrganismos testados resultou em reatividade cruzada com a sonda de deteção de MTB, gerando resultados **MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)** para todos os microrganismos e para todas as réplicas testados. As tabelas a seguir listam os microrganismos testados para o ensaio da especificidade analítica. O *Aspergillus fumigatus* foi testado analiticamente e não demonstrou interferência ou reatividade cruzada. A reatividade cruzada com outras espécies de fungos não é evidente por análise *in silico*.

Tabela 14. Especificidade analítica do Xpert MTB/XDR (bactérias/fungos)

Microrganismo
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Chlamydomyxa pneumoniae</i> ^a
<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>

Microrganismo
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Neisseria mucosa</i>
<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>

^a ADN genómico

Tabela 15. Especificidade analítica do Xpert MTB/XDR (vírus)

Microrganismo
Coronavírus 229E
Metapneumovírus humano (hMPV) 16 Tipo A1
Vírus Parainfluenza tipo 1
Vírus Parainfluenza tipo 2
Vírus Parainfluenza tipo 3
Vírus sincicial respiratório
Rinovírus 1A

Tabela 16. Especificidade analítica do Xpert MTB/XDR (NTM)

Microrganismo
<i>Mycobacterium asiaticum</i>
<i>Mycobacterium avium</i> NJH
<i>Mycobacterium celatum</i>
<i>Mycobacterium chelonae</i>

Microrganismo
<i>Mycobacterium flavescens</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i> subsp. <i>Fortuitum</i>
<i>Mycobacterium gastris</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i> (3 estirpes. Consulte Tabela 20.)
<i>Mycobacterium genavense</i>
<i>Mycobacterium haemophilum</i>
<i>Mycobacterium malmoeense</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>
<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Mycobacterium terrae</i>
<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>
<i>Mycobacterium triviale</i>
<i>Mycobacterium vaccae</i>
<i>Mycobacterium xenopi</i>
<i>Mycobacterium avium</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>
<i>Mycobacterium abscessus</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>

19.3 Reatividade analítica (inclusividade)

A reatividade analítica (inclusividade) do teste Xpert MTB/XDR foi avaliada utilizando um painel filogeneticamente diverso composto por estirpes de MTB suscetíveis e resistentes a fármacos para avaliar a exatidão dos resultados da suscetibilidade a fármacos do teste. O painel composto por vinte e duas (22) estirpes do complexo MTB (MTBC) incluiu oito (8) estirpes suscetíveis a fármacos com genes-alvo do tipo selvagem (Tabela 17) e catorze (14) estirpes resistentes a fármacos bem caracterizadas (Tabela 18). Todas as estirpes foram testadas em triplicado a concentrações iguais ou perto de 3x LoD do alvo, o promotor do *inhA*. O número de cópias testado para os lisados de ADN genómico baseou-se num ensaio de ligação de corante fluorescente específico para ADN de cadeia dupla (dsADN).

As estirpes suscetíveis a fármacos foram testadas e incluíram cinco estirpes de MTB (AR2, GD139, AH1, HR36, H37Rv) e três espécies de micobactérias do complexo MTB (*M. bovis*, *M. canetti* e *M. microti*). As estirpes de MTB foram selecionadas para representarem de modo abrangente o leque de diversidade genética e incluem um representante de cada uma das principais linhagens filogenéticas com base nos SNP-cluster groups (SCGs)²⁰.

As 14 estirpes MTB resistentes a fármacos foram testadas utilizando lisados de ADN genómico de amostras bem caracterizadas, que contêm 16 mutações canónicas clinicamente significativas com, pelo menos, uma de cada uma das oito regiões-alvo do teste. Estas mutações estão frequentemente presentes, a nível mundial, em estirpes de MTB multirresistentes ou extensamente resistentes a fármacos, com a exceção de uma mutação no gene *gyrB*.

A Tabela 17 resume os resultados para as estirpes suscetíveis a fármacos, mostrando o número de resultados corretos para cada analito individual no teste. Todos os membros do painel geraram **DETETADO MTB (MTB DETECTED)**; **RESISTÊNCIA NÃO DETETADA (RESISTANCE NOT DETECTED)**. O teste Xpert MTB/XDR identificou

corretamente todas as réplicas das estirpes testadas perto do limite de detecção, com resultados do tipo selvagem para todas as sondas, exceto *oxyR-ahpC*. Uma vez que o alvo *oxyR-ahpC* tinha um LoD superior ao dos outros alvos no teste, algumas réplicas testadas não produziram resultados para a Tm.

Os resultados na Tabela 18 mostram que o teste identificou corretamente as mutações de resistência esperadas em todas as 14 estirpes resistentes à isoniazida com mutações no promotor do *inhA*, *katG* e região intergênica *oxyR-ahpC*; resistência a SLIDs com mutações no *rrs* e região promotora do *eis*; e resistência a FLQ com mutações no *gyrA*.

Tabela 17. Reatividade analítica (inclusividade) para estirpes suscetíveis a fármacos

Amostra	Linagem da estirpe	<i>inhA</i>	<i>katG</i>	<i>fabG1</i>	<i>oxyR-ahpC</i> ^a	<i>gyrA1</i>	<i>gyrA2</i>	<i>gyrA3</i>	<i>gyrB2</i>	<i>rrs</i>	<i>eis</i>
<i>M. bovis</i> BCG)	Não atribuído	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	NÃO APROVADO (FAIL)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)
<i>M. bovis</i>	Não atribuído	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	NÃO APROVADO (FAIL)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)
MTB (AR2)	2	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)
MTB (GD139)	3	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)
MTB (AH1)	4	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)
MTB (HR36)	5	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)
MTB (HR37Rv)	4	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	NÃO APROVADO (FAIL)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)
<i>M. canetti</i>	Não atribuído	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	NÃO APROVADO (FAIL)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)
<i>M. microti</i>	Não atribuído	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)	APROVADO (PASS)

^a O LoD para *oxyR-ahpC* é superior ao do *inhA* utilizado para a determinação da positividade para MTB. "APROVADO (PASS)" indica que todas as réplicas testadas geraram o Tm de tipo selvagem esperado; "NÃO APROVADO (FAIL)" indica que, pelo menos, uma ou mais réplicas não geraram valores de Tm.

Tabela 18. Reatividade analítica (inclusividade) para estirpes resistentes a fármacos (n.º de resultados positivos/total testado)

ID da estirpe	Gene	Mutação esperada	MTB detetado (MTB detected)	Detetada Tm sonda mutante (n.º positivos/testados)	Resultados DETETADA RESISTÊNCIA (RESISTANCE DETECTED) corretos (n.º positivos/testados)
Clínica	gyrA	GAC 94 TAC	3/3	gyrA1-MutB (3/3); gyrA3-MutC (3/3)	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG Mut (3/3)	INH [3/3]
	fabG1	G609A		fabG1 Mut (3/3)	INH [3/3]
Clínica	gyrA	GGC 88 GCC, GCG 90 GTG, TCG 91 CCG	3/3	gyrA1-MutB (2/3), ^a gyrA1-MutC (2/3), gyrA2-MutA (3/3), gyrA3-MutB (1/3)	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG Mut (3/3)	INH [3/3]
	rrs	A1401G		rrs-Mut (3/3)	AMK, CAP, KAN [3/3]
Clínica	gyrA	GAC 94 GGC	3/3	gyrA3-MutB (3/3)	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG Mut (3/3)	INH [3/3]
	rrs	A1401G		rrs-Mut (3/3)	AMK, CAP, KAN [3/3]
14-14194	gyrA	GAC 94 GCC	3/3	gyrA1-MutA, gyrA2-MutA	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
15-14175	katG	AGC 315 ACC	3/3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	eis	-10G/A		eis-Mut (3/3)	KAN [3/3]
15-14191	katG	AGC 315 ACC	3/3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	eis	-10G/A		eis-Mut (3/3)	KAN [3/3]
16-05612	katG	AGC 315 ACC	3/3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
	eis	-12C/T		eis-Mut (3/3)	KAN [3/3]
16-05613	katG	AGC 315 ACC	3/3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
	eis	-12C/T		eis-Mut (3/3)	KAN [3/3]
14-13764	katG	AGC 315 ACC	3/3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	-48G/A		ahpc-Mut (3/3)	INH [3/3]
14-13806	katG	AGC 315 ACC	3/3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	-48G/A		ahpc-Mut (3/3)	INH [3/3]
Clínica	gyrA	GCG 90 GTG, GAC 94 GGC	3/3	gyrA3-MutB (3/3)	FLQ [3/3]

ID da estirpe	Gene	Mutação esperada	MTB detetado (MTB detected)	Detetada Tm sonda mutante (n.º positivos/testados)	Resultados DETETADA RESISTÊNCIA (RESISTANCE DETECTED) corretos (n.º positivos/testados)
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	G-6A		ahpC (2/3) ^b	INH [3/3]
Clínica	katG	AGC 315 ACC	3/3	katG Mut (3/3)	INH [3/3]
Clínica	gyrB2	ACC 539 AAC	3/3	gyrB2 WT ^c	*Nenhuma resistência detetada [0/3]
	rrs	A1401G		rrs-Mut (3/3)	AMK, CAP, KAN [3/3]
	gyrA	GCG 90 GTG		gyrA1 MuB (3/3), gyrA2 MutA (3/3), gyrA3 MutB (3/3)	FLQ [3/3]
	ahpC	g -6 a		ahpC Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
Clínica	gyrA	TCG 91 CCG	3/3	gyrA1-MutB (3/3), gyrA2-MutA (3/3), gyrA3-MutC (3/3)	FLQ [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]

- ^a Esta amostra contendo três diferentes mutações no gene *gyrA* não gerou Tm mutantes para as três sondas do *gyrA* durante todo o tempo. Contudo, para que seja feita a atribuição correta de resistência, pelo menos uma sonda precisa de gerar uma Tm mutante, a atribuição ser feita corretamente para todos os replicados, dado que pelo menos uma sonda do *gyrA* gerou sempre, pelo menos uma Tm mutante quando testada.
- ^b Esta amostra é um mutante duplo do katG/ahpC. A réplica com uma Tm de um mutante do ahpC em falta foi atribuída a INH-R devido à presença da mutação do katG, que foi detetada pelo teste.
- ^c Esta mutação específica não é detetada pelo teste. Contudo, existem evidências clínicas limitadas de que esta mutação possa realmente contribuir para a resistência às FLQ (mutação de baixa confiança para resistência às FLQ).

19.4 Estudo de substâncias interferentes

O desempenho do teste Xpert MTB/XDR foi avaliado na presença de 35 substâncias potencialmente interferentes que podem estar presentes na expetoração. As classes de substâncias potencialmente interferentes incluem substâncias endógenas que podem estar presentes na amostra e substâncias exógenas que podem ser introduzidas na amostra. Foram testadas soluções isotónicas e hipertónicas, broncodilatadores e broncodilatadores inalados frequentemente utilizados na colheita de expetoração induzida, não tendo interferido no teste. A indução com soro fisiológico pode resultar num número insuficiente de microrganismos recuperados e pode afetar a deteção de *M. tuberculosis*.

As substâncias testadas estão discriminadas na Tabela 19, mostrando-se as substâncias ativas e as concentrações testadas. Foram testadas amostras negativas (n = 8) para cada substância para determinar o efeito no desempenho do controlo de processamento da amostra (SPC). Para cada substância foram testadas amostras positivas (n = 8) de *Mycobacterium bovis*, *bacilo de Calmette-Guerin (BCG)* contaminadas em 3x o limite de deteção analítico para positividade para TB. Todas as substâncias foram testadas num fundo de expetoração humana agrupada negativa para MTB incluído neste estudo. Todas as réplicas positivas e negativas foram identificadas corretamente com o teste Xpert MTB/XDR, exceto para o gel Zicam (50% p/v; resultando em **MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)** em 11,1% das réplicas testadas).

Tabela 19. Substâncias potencialmente interferentes no teste Xpert MTB/XDR

Substância/Classe	Descrição/Substância ativa	Concentração testada
Sangue (humano)	Sangue a 5% (v/v)	5% (v/v)
ADN/células humanas	Linha celular HELA 229	10 ⁶ células/ml
Leucócitos (humanos)	Matriz de leucócitos/pus (30% de camada leucoplaquetária, 30% de plasma, 40% de PBS)^	100% (v/v)
Antimicótico; antibiótico	Nistatina 500 KU (100%)	20% (v/v)
Elixir bucal germicida	Gluconato de clorexidina (0,12%) colutório, USP	20% (v/v)
Reagentes de processamento de amostras	Cloreto de cetilpiridínio, 1% em NaCl a 2%	0,5% (v/v) em NaCl a 1%
Reagentes de processamento de amostras	Cloreto de cetilpiridínio, 1% em NALC a 2%	0,5% (v/v) em 1% NALC
Reagentes de processamento de amostras	Cloreto de cetilpiridínio, 1% em 2% NALC mais citrato 25 mM	0,5% (v/v) em 1% NALC mais citrato 12,5 mM
Ácido gástrico	Solução de pH 3 a 4 em água, neutralizada com bicarbonato de sódio	100% (v/v)
Anestésicos (entubação endotraqueal)	Cloridrato de lidocaína a 4%	4% (v/v)
Soluções nebulizantes	NaCl a 5% (p/v)	5% (p/v)
Mucina	Mucina a 5% (p/v)	5% (p/v)
Antibacteriano, sistêmico	Levofloxacina a 25 mg/ml	5 mg/ml
Corticosteroides nasais	Flucatisona a 500 mcg/spray	5 µg/ml;
Broncodilatadores inalados	Sulfato de albuterol (2 mg/5 ml)	100 µg/ml
Anestésicos orais	Orajel (benzocaína a 20%)	5% (p/v)
Fármacos antivirais	aciclovir	50 µg/ml
Antibiótico, pomada nasal	Neosporin (400 U bacitracina, 3,5 mg neomicina, 5000 U polimixina B)	5% (p/v)
Tabaco	Nicogel, extrato de tabaco a 40%	0,5%
Fármacos antituberculose	Éstreptomina 1 mg/ml	25 µg/ml
Fármacos antituberculose	Etambutol 1 mg/ml	50 µg/ml
Fármacos antituberculose	Isoniazida 50 mg/5 ml	50 µg/ml
Expetorantes orais	Guaifenesina (400 mg/comprimido)	5 mg/ml
Fármacos antituberculose	Pirazinamida (500 mg/comprimido)	100 µg/ml
Gel nasal (homeopático)	Gel Zicam	50% (p/v)
		20% (p/v)
Spray nasal	Fenilefrina 1%	0,5% (v/v)

Substância/Classe	Descrição/Substância ativa	Concentração testada
Fármacos antituberculose	Rifampicina (300 mg/comprimido)	25 µg/ml
Analgésico para a alergia (homeopático)	Óleo da árvore do chá 100% puro (<5% Cineole, >35% terpinina-4-ol)	0,5% (v/v)
Soluções nebulizantes	Isotionato de pentamidina	300 ng/ml
Fármacos antituberculose	Amoxicilina	25 µg/ml
Broncodilatador	Adrenalina	1 mg/ml
Fármacos antituberculose	Amicacina	70 µg/ml
Fármacos antituberculose	Capreomicina	50 µg/ml
Fármacos antituberculose	Canamicina	50 µg/ml
Fármacos antituberculose	Etionamida	50 µg/ml
FluMist Qual Nasal	Vacina viva contra a gripe - nasal	5%

19.5 Estudo de contaminação por transferência

Foi realizado um estudo para demonstrar que o “carryover”, a contaminação cruzada não ocorre quando são utilizados cartuchos Xpert MTB/XDR de utilização única e autônomos. O estudo consistiu no processamento de uma amostra negativa imediatamente após o processamento de uma elevada concentração de *Mycobacterium bovis-Bacilo de Calmette-Guerin* (BCG) a $1 \times 10^{+6}$ UFC/ml em expetoração humana no mesmo módulo GeneXpert. Este esquema de testagem foi repetido, pelo menos, 20 vezes em dois módulos GeneXpert, perfazendo um total de 41 execuções, resultando em 20 amostras positivas e 21 negativas por módulo.

Todas as 20 amostras positivas foram identificadas corretamente como **MTB DETETADO (MTB DETECTED)**; **Resistência à INH NÃO DETETADA (INH Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à FLQ NÃO DETETADA (FLQ Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à AMK NÃO DETETADA (AMK Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à KAN NÃO DETETADA (KAN Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à CAP NÃO DETETADA (CAP Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à ETH NÃO DETETADA (ETH Resistance NOT DETECTED)**. Todas as 21 amostras negativas foram corretamente identificadas como **MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)**. Nas condições deste estudo, não se observaram evidências de qualquer contaminação por carryover quando se testou com uma amostra positiva muito alta de BCG com a concentração de $1,0 \times 10^{+6}$ UFC/ml.

19.6 Estudo de interferência competitiva

A interferência competitiva do teste causada pela presença de elevadas concentrações de micobactérias não tuberculose (NTM) na detecção de níveis baixos de MTB no teste Xpert MTB/XDR foi avaliada testando o membro representativo do MTBC, BCG a $\sim 3x$ LoD (411 UFC/ml) na presença de diferentes estirpes de NTM com uma concentração de $1 \times 10E +06$ UFC/ml num fundo de tampão de controlo negativo. A positividade para MTB baseia-se na detecção de uma altura e uma temperatura de pico de fusão válidas para o promotor do *inhA*. A detecção de resistência baseia-se em alturas de pico mutantes e temperaturas de pico de fusão mutantes válidas para os analitos individuais (*inhA*, *katG*, *gyrA1*, *gyrA2*, *gyrA3*, *gyrB2* e *eis*). Os analitos *oxyR-ahpC* e *fabG1* foram excluídos devido a menor sensibilidade e o *rrs* foi excluído devido a interferência conhecida com a microflora. Todas as amostras que contêm BCG devem ter resultados como **MTB DETETADO (MTB DETECTED)**; **Resistência à INH NÃO DETETADA (INH Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à FLQ NÃO DETETADA (FLQ Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à AMK NÃO DETETADA (AMK Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à KAN NÃO DETETADA (KAN Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à CAP NÃO DETETADA (CAP Resistance NOT DETECTED)**; **Resistência à ETH NÃO DETETADA (ETH Resistance NOT DETECTED)**.

Foram testadas quatro réplicas de cada condição de teste com mistura competitiva de NTM/ BCG juntamente com uma condição de controlo positivo com apenas BCG a $\sim 3x$ LoD. Nenhuma das estirpes NTM testadas interferiu com a detecção de 411 UFC/ml de BCG e geraram os resultados corretos, conforme supramencionado. Contudo, nas condições deste estudo, foram observados efeitos inibitórios competitivos na presença de apenas uma das duas estirpes de *M. marinum* (ATCC 0927)

testadas. Foi observada interferência com as sondas gyrA2 apenas com concentrações de desafio de >10⁴ UFC/ml gerando resultados INDETERMINADO (INDETERMINATE) para a resistência às FLQ com essas concentrações de provocação elevadas. Consulte a Seção 17. Limitações para obter mais informação.

Tabela 20. Interferência competitiva pelas NTM na detecção de MTB e na detecção de suscetibilidade a fármacos

Condição de teste/ ID da estirpe NTM	NTM UFC/ml	MTB detetado (MTB detected)	INH	FLQ	AMK	KAN	CAP	ETH
<i>MTB + M. avium</i> /(NJH)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. gastri</i> / (ATCC 15754)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. gordonae</i> /(NJH)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. gordonae</i> / (ATCC 14470)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. gordonae</i> / (ATCC 35760)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. marinum</i> /(NJH)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. marinum</i> / (ATCC 0927)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	NÃO APRO- VADO (FAIL)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
	10E+05	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	NÃO APRO- VADO (FAIL)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
	10E+04	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
	10E+03	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. xenopi</i> / (ATCC 70084)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. avian</i> / (ATCC 15769)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. intracellulare</i> / (ATCC 35771)	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)

Condição de teste/ ID da estirpe NTM	NTM UFC/ml	MTB detetado (MTB detected)	INH	FLQ	AMK	KAN	CAP	ETH
<i>MTB + M. abscessus/ (ATCC 19977)</i>	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)
<i>MTB + M. kansasii/ (ATCC 12478)</i>	10E+06	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)	APRO- VADO (PASS)

“APROVADO (PASS)” indica que todas as réplicas testadas geraram o resultado “RESISTÊNCIA NÃO DETETADA (RESISTANCE NOT DETECTED)” para os fármacos relevantes.

“NÃO APROVADO (FAIL)” indica que, pelo menos, uma ou mais réplicas geraram o resultado “RESISTÊNCIA INDETERMINADA (RESISTANCE INDETERMINATE)” para um fármaco em particular.

19.7 Equivalência entre expetoração fresca e congelada

A equivalência entre expetoração fresca e congelada com o teste Xpert MTB/XDR foi avaliada testando células de *M. bovis* – bacilo de Calmette-Guerin (BCG) num fundo de expetoração não processada negativa para MTB agrupada com duas concentrações, representando 3x LoD (400 UFC/ml) e 1000x LoD ($1,3 \times 10^5$ UFC/ml). Réplicas das amostras para cada concentração foram congeladas e conservadas a -80 °C e, pelo menos, 8 réplicas foram descongeladas e testadas após conservação durante 1 semana, 2 semanas, 1 mês, 3 meses, 6 meses e 9 meses. Os resultados foram comparados com expetoração não processada contaminada com as mesmas concentrações testadas no ponto temporal zero antes do congelamento.

O desempenho do ensaio não foi afetado e foram obtidos resultados corretos para todas as réplicas testadas a 3x LoD após conservação a -80 °C durante 2 semanas, 3 meses e 6 meses. Uma única réplica no ponto temporal “1 semana” teve um resultado **Resistência à INH indeterminada (INH-Resistance Indeterminate)** devido a “drop-out” da sonda *katG* e uma única réplica a “1 mês” gerou um “drop-out” de *ahpC*, mas foram observados resultados corretos para todas as réplicas aos 3 e 6 meses. Foram obtidos resultados corretos para o ponto temporal “9 meses” a 3x Lo em 8 de 9 réplicas (89%). Não foi observado qualquer efeito no desempenho do ensaio quando a expetoração com 1000x LoD foi conservada a -80 °C em todos os pontos temporais testados até aos 9 meses. Os resultados deste estudo apoiam a conservação por congelamento a -80 °C de expetoração não processada até um máximo de 6 meses.

19.8 Inativação de micobactérias em amostras de expetoração

A capacidade de desinfecção do reagente de amostra do Xpert MTB foi determinada usando um método de cultura tuberculicida quantitativo padronizado.²¹ As amostras de expetoração foram contaminadas com uma concentração elevada de microrganismos *M. bovis* viáveis, misturadas com o reagente de amostra numa proporção de 2:1 e incubadas durante 15 minutos. Após a incubação, a mistura reagente de amostra/expetoração foi neutralizada por diluição e filtração sendo, de seguida, efetuada a cultura. A viabilidade dos microrganismos *M. bovis* provenientes de expetoração tratada foi reduzida em, pelo menos, 6 log em comparação com o controlo não tratado.

Cada laboratório deve determinar a eficácia das propriedades desinfetantes do reagente de amostra, usando os seus métodos padronizados e deve cumprir os regulamentos sobre biossegurança recomendados.

20 Precisão e reprodutibilidade

A precisão e reprodutibilidade do teste Xpert MTB/XDR foram estabelecidas num estudo multicêntrico (três locais), em ocultação com um design hierárquico (nested) multifatorial. O estudo consistiu num painel de amostras de cinco membros e cada membro do painel foi preparado contaminando uma estirpe de MTB de tipo selvagem (WT) e uma estirpe de MTB mutante (MUT) dentro de uma matriz da expetoração artificial. As estirpes WT e MUT foram fabricadas a partir de plasmídeos transportando sequências de MTB XDR de tipo selvagem ou mutante para os genes-alvo do ensaio, encapsulados em *E. coli* morta, quimicamente fixada.

Os membros do painel foram preparados a ~1xLoD e ~3xLoD usando as temperaturas de desnaturação (T_m) do promotor do *inhA* alvo no teste Xpert MTB/XDR, que gera o resultado **MTB DETETADO/NÃO DETETADO (MTB DETECTED/NOT DETECTED)** dependendo da presença ou ausência da T_m específica do promotor do *inhA* de tipo selvagem ou mutante. Os testes foram realizados durante seis dias com três lotes de cartuchos de Xpert MTB/XDR. Cada local tinha dois operadores (OP1 e OP2) que realizaram duas execuções cada com duas réplicas/execuções em cada dia. Uma réplica era um cartucho de teste único. A concordância percentual para cada membro do painel é apresentada na Tabela 21.

Tabela 21. Concordância percentual do teste Xpert MTB/XDR para detecção de MTB e do *inhA*

Amostra	Local 1			Local 2			Local 3			Concordância total por amostra
	OP 1	OP 2	Subtotal	OP 1	OP 2	Subtotal	OP 1	OP 2	Subtotal	
MTB MUT 1xLoD	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	91,7% (44/48)	96,5% (139/144)
MTB MUT 3xLoD	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,92% (47/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	99,3% (143/144)
MTB WT 1xLoD	100% (24/24)	91,67% (22/24)	95,8% (46/48)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	91,7% (44/48)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	95,8% (46/48)	94,4% (136/144)
MTB WT 3xLoD	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
NEG	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	99,3% (143/144)

O desempenho do teste Xpert MTB/XDR nas estirpes de MTB WT e MUT nas amostras do painel de LoD baixo (~1x) e moderado (~3x) para cada gene-alvo onde o MTB foi detetado é apresentado na Tabela 22.

Tabela 22. Concordância percentual do Xpert MTB/XDR em amostras de MTB dos tipos MUT e WT

Fármaco	Concordância percentual			
	MTB MUT 1x LoD (IC de 95%) [n em concordância/ n total]	MTB MUT 3x LoD (IC de 95%) [n em concordância/ n total]	MTB WT 1x LoD (IC de 95%) [n em concordância/ n total]	MTB WT 3x LoD (IC de 95%) [n em concordância/ n total]
INH	100,00% (97,3–100) [139/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	89,1% (82,6–93,4) [115/129]	99,3% (96,2–99,9) [143/144]
FLQ	87,80% (81,3–92,2) [122/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	81,4% (73,8–87,2) [105/129]	95,8% (91,2–98,1) [138/144]
ETH	100,00% (97,3–100) [139/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	99,2% (95,7–99,9) [128/129]	100,0% (97,4–100,0) [144/144]
AMK	100,00% (97,3–100) [139/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	91,5% (85,4–95,2) [118/129]	98,6% (95,1–99,6) [142/144]

Fármaco	Concordância percentual			
	MTB MUT 1x LoD (IC de 95%) [n em concordância/ n total]	MTB MUT 3x LoD (IC de 95%) [n em concordância/ n total]	MTB WT 1x LoD (IC de 95%) [n em concordância/ n total]	MTB WT 3x LoD (IC de 95%) [n em concordância/ n total]
CAP	99,30% (96,3–99,0) [138/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	98,4% (94,5–99,6) [127/129]	99,3% (96,2–99,9) [143/144]
KAN	100,00% (97,3–100) [139/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	91,5% (85,4–95,2) [118/129]	98,6% (95,1–99,6) [142/144]

21 Referências

1. OMS. Global Tuberculosis Report 2019. www.who.int/tb/publications/global_report
2. OMS. 2018, Rapid Communication: Key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis.
3. WHO, 2019, Rapid Communication: Key changes to the treatment of drug-resistant tuberculosis
4. Sulis G, Pai M (2020) Isoniazid-resistant tuberculosis: A problem we can no longer ignore. *PLoS Med* 17(1): e1003023
5. Soumitesh Chakravorty, Sandy S. Roh, et al Department of Medicine, New Jersey Medical School, Newark, New Jersey, USA Detection of Isoniazid-, Fluoroquinolone-, Amikacin-, and Kanamycin-Resistant Tuberculosis in an Automated, Multiplexed 10-Color Assay Suitable for Point-of-Care Use *J Clin Microbiol* Jan 2017 Volume 55 Issue 1.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood, LC and Wilson, DE (eds) (2009). HHS Publication number (CDC) 21-1112.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar a edição mais recente).
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria; Document M48A(refer to latest edition).
9. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 16 de dezembro de 2008, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
11. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—A Guide for Level III Laboratory, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546
12. Camus JC, et al. 2002. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology* 148:2967–73.)
13. Zhang et al. 1996. Molecular basis for the exquisite sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(23):13212–13216
14. Maruri et al. 2012. A systematic review of gyrase mutations associated with fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* and a proposed gyrase numbering system. *J Antimicrob Chemother*.
15. Vadwai V, Ajbani K, Jose M, Vineeth VP, Nikam C, Deshmukh M, Shetty A, Soman R, Rodrigues C. Can inhA mutation predict ethionamide resistance? *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013 Jan;17(1):129-30. doi: 10.5588/ijtld.12.0511. Epub 2012 Nov 8. PubMed PMID: 23146620
16. Dunn JJ, Starke JR, Revell PA. 2016. Laboratory diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease in children. *J Clin Microbiol* 54:1434–1441. doi:10.1128/JCM.03043
17. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children, *Am J Respir Crit Care Med* Vol 161. pp 1376–1395, 2000.

18. Seifert M, Catanzaro D, Catanzaro A, Rodwell TC (2015) Genetic Mutations Associated with Isoniazid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: A Systematic Review. PLoS ONE 10(3): e0119628. doi:10.1371/journal.pone.0119628
19. Farhat MR, Jacobson KR, Franke MF, Kaur D, Sloutsky A, Mitnick CD, Murray M. 2016. Gyrase mutations are associated with variable levels of fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 54:727–733. doi:10.1128/JCM.02775-15.
20. Gagneux S, Small PM. Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development. Lancet Infect Dis. 2007 May;7(5):328-37.
21. Banada, P. et.al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point of Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010.48:10. 3551-3557.

22 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

23 Assistência técnica

Antes de nos contactar

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

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

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.

24 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Marcação CE — Conformidade Europeia
	Não reutilizar
	Código de lote
	Consultar as instruções de utilização
	Fabricante
	Conteúdo suficiente para <i>n</i> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Cuidado
	Líquidos inflamáveis
	Corrosivo para a pele
	Toxicidade reprodutiva e em órgãos
	País de fabrico
	Mandatário 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



25 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.