

# Xpert® Carba-R

**REF** **GXCARBARP-CE-10**

**GXCARBARP-CE-120**

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

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup> and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid.

Remel<sup>™</sup> is a trademark of Remel.

BBL<sup>™</sup> and Sensi-Disc<sup>™</sup> are trademarks of Becton Dickinson.

Windows<sup>®</sup> is a trademark of Microsoft Corporation.

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

**Copyright © Cepheid 2018-2023. All rights reserved.**

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

Cepheid<sup>®</sup>, o logótipo da Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> e Xpert<sup>®</sup> são marcas registadas da Cepheid.

Remel<sup>™</sup> é uma marca comercial da Remel.

BBL<sup>™</sup> e Sensi-Disc<sup>™</sup> são marcas comerciais da Becton Dickinson.

Windows<sup>®</sup> é uma marca comercial da Microsoft Corporation.

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

**Copyright © Cepheid 2018-2023. Todos os direitos reservados.**



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA  
Phone: + 1 408 541 4191  
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France  
Phone: + 33 563 825 300  
Fax: + 33 563 825 301

# Xpert<sup>®</sup> Carba-R

---

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

## 1 Nome proprietário

Xpert<sup>®</sup> Carba-R

## 2 Nome comum ou usual

Ensaio Xpert Carba-R

## 3 Utilização prevista do dispositivo

O ensaio Xpert Carba-R, realizado nos Sistema do instrumento GeneXpert<sup>®</sup>, é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo destinado a deteção e diferenciação das sequências genéticas *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>IMP</sub> associadas à não-suscetibilidade a carbapenemos. O teste utiliza a reação em cadeia de polimerase (PCR) automática em tempo real.

O ensaio Xpert Carba-R tem como objetivo auxiliar no controlo da infeção na deteção de bactérias não suscetíveis a carbapenemos que colonizam pacientes em unidades de cuidados de saúde. Um resultado negativo no ensaio Xpert Carba-R não exclui a presença de outros mecanismos de resistência.

O ensaio Xpert Carba-R destina-se a ser utilizado com os seguintes tipos de amostra:

### Colónias puras

O ensaio é efetuado com colónias puras de *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* ou *Pseudomonas aeruginosa* não-suscetíveis a carbapenemos, quando cultivadas em ágar sangue ou ágar MacConkey. Para testes de colónias puras, o ensaio Xpert Carba-R deve ser utilizado juntamente com outros testes laboratoriais, incluindo testes de suscetibilidade anti-microbiana fenotípica.

A identificação de um gene *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>NDM</sub> ou *bla*<sub>VIM</sub> para uma metalo-beta-lactamase (ou seja, os genes que codificam as metalo-beta-lactamases IMP, NDM e VIM, respetivamente) pode ser utilizada como um auxiliar para os médicos para a determinação de estratégias terapêuticas apropriadas para pacientes com infeções bacterianas não suscetíveis a carbapenemos conhecidas ou suspeitas.

### Amostras de zaragatoa retal e peri-retal

O ensaio é efetuado com amostras de zaragatoa retal e peri-retal de pacientes em risco de colonização intestinal com bactérias não suscetíveis a carbapenemos. São necessárias culturas concomitantes para recuperar microrganismos para tipagem epidemiológica, testes de suscetibilidade anti-microbiana e para posterior identificação confirmatória de bactérias.

O ensaio Xpert Carba-R, quando efetuado com amostras de zaragatoa retal e peri-retal, não se destina a orientar ou monitorizar o tratamento de infeções bacterianas não suscetíveis a carbapenemos ou a determinar se se trata de uma infeção bacteriana não suscetível a carbapenemos.

## 4 Resumo e explicação

A proliferação global das espécies produtoras de carbapenemase *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* (isto é, organismos não suscetíveis a carbapenemos [carbapenem non-susceptible organisms, CNSO]) é um problema médico e de saúde pública crítico.<sup>1,2</sup> Estas bactérias são muitas vezes resistentes a todos os agentes beta-lactâmicos e frequentemente co-resistentes a várias classes de outros agentes antimicrobianos, havendo muito poucas opções de tratamento restantes.<sup>3</sup> Seguir a proliferação de CNSO torna-se complicado devido à diversidade de enzimas hidrolisantes de carbapenemos que têm surgido e à capacidade de proliferação dos genes entre várias espécies de bactérias. Alguns dos genes de resistência, como os determinantes de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) estão associados a linhagens clonais bem sucedidas de bactérias (por ex., *K. pneumoniae* ST258),<sup>4</sup> que têm uma vantagem seletiva em unidades hospitalares onde a utilização antimicrobiana é elevada. As oportunidades para a transmissão de organismos são normalmente frequentes, com maior disseminação dos genes de resistência através de plasmídeos transmissíveis e integrões. A estirpe *K. pneumoniae* ST258 tem provocado várias epidemias globais, especialmente nos Estados Unidos<sup>1</sup> e em Israel.<sup>5</sup> De forma semelhante, os organismos contendo o gene que codifica metalo-beta-lactamase Nova Deli (NDM) foram introduzidos na Europa por pessoas que, em muitos casos, visitaram a Índia ou o Paquistão.<sup>6</sup> Um terceiro mecanismo de resistência a carbapenemos, por intermédio de metalo-beta-lactamase Verona mediada por integrões (VIM), tem constituído há vários anos uma preocupação na Europa.

Metallo-beta-lactamases adicionais, como as da classe imipenemase (IMP), têm sido reconhecidas há muitos anos no Japão e em outros países asiáticos, proliferando-se agora globalmente.<sup>3</sup> Além disso, a oxacilinase da classe D, OXA-48, que efetua frequentemente a mediação da resistência de baixo nível a carbapenemos, está agora a proliferar-se rapidamente na Europa.<sup>7,8</sup> Atualmente, o método padrão para detetar pacientes com colonização por organismos não suscetíveis a carbapenemos é a cultura de amostras de zaragatoas retais ou peri-retais em placas de ágar seletivas gram-negativas, como ágar MacConkey, seguida por testes de suscetibilidade antimicrobiana de colónias fermentadoras de lactose, ou a utilização de meios de ágar de rastreio seletivo.<sup>9</sup> O primeiro método é trabalhoso e poderá exigir vários dias para gerar um resultado final, enquanto a última abordagem varia consideravelmente quanto à sensibilidade e especificidade conforme o meio seletivo utilizado.

Um método rápido e exato para determinar se uma amostra de zaragatoa retal ou peri-retal ou um isolado bacteriano não suscetível a carbapenemos é portador de uma destas cinco classes comuns de genes de resistência a carbapenemos seria uma ajuda significativa para programas de controlo de infeções, especialmente durante surtos, dado que poderia potencialmente: 1) identificar o gene específico de resistência presente no organismo; e 2) diferenciar aqueles organismos com os genes de resistência a carbapenemos transmissíveis mais comuns que codificam enzimas carbapenemases dos organismos que são resistentes devido a outras beta-lactamases e/ou alterações na parede celular do organismo e que não exigem necessariamente a colocação do paciente num ambiente com precauções de contacto.

Os desafios terapêuticos associados às Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenemos criaram uma sensibilização acentuada relativa à necessidade de uma rápida deteção e da implementação de medidas eficazes para a contenção e a prevenção da transmissão. Agentes antimicrobianos, tais como associações de beta-lactâmico/inibidor da beta-lactamase têm uma atividade diversificada contra bactérias produtoras de metallo-beta-lactamases. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R que demonstrem a presença de genes *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub> e *bla*<sub>NDM</sub> que codificam metallo-beta-lactamase em colónias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica que inclua associações de beta-lactâmico/inibidor da beta-lactamase.<sup>10,11,12,13,14</sup>

## 5 Princípio do procedimento

O sistema de instrumentos GeneXpert automatiza e integra a preparação de amostras, a extração e amplificação de ácidos nucleicos e a deteção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-carregado para a execução de testes e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorre esse processo. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*.

O ensaio Xpert Carba-R inclui reagentes para a deteção de sequências de genes *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>IMP</sub>, bem como um controlo de processamento da amostra (SPC) para controlo do processamento adequado da bactéria alvo e para indicar a presença de inibidor(es) na reação PCR. O SPC também assegura que as condições da reação PCR (temperatura e tempo) são apropriadas para a reação de amplificação e que os reagentes da PCR estão funcionais. Um controlo interno adicional, o controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

Os iniciadores e sondas no ensaio Xpert Carba-R detetam sequências exclusivas para as sequências de genes *bla*<sub>KPC</sub> (KPC), *bla*<sub>NDM</sub> (NDM), *bla*<sub>VIM</sub> (VIM), *bla*<sub>OXA-48</sub> (OXA-48) e *bla*<sub>IMP</sub> (IMP) associadas à não suscetibilidade a carbapenemos em bactérias Gram-negativas.

## 6 Reagentes e instrumentos

### 6.1 Materiais fornecidos



O kit do ensaio Xpert Carba-R (GXCARBARP-CE-10) contém reagentes suficientes para processar 10 amostras, e o kit do ensaio Xpert Carba-R (GXCARBARP-CE-120) contém reagentes suficientes para processar 120 amostras. Os kits contêm o seguinte:

<b>Cartuchos do ensaio Xpert Carba-R com tubos de reação integrados</b>	<b>10</b>	<b>120</b>
• Esfera 1, Esfera 2, e Esfera 3 (secagem por congelamento)	1 de cada por cartucho	1 de cada por cartucho
• Reagente 1	3 ml por cartucho	3 ml por cartucho
• Reagente 2 (cloreto de guanidina)	2,5 ml por cartucho	2,5 ml por cartucho
<b>Frascos de reagente de amostra do ensaio Xpert Carba-R</b>	<b>10</b>	<b>120</b>
• Reagente de amostra	5,0 ml por cartucho	5,0 ml por cartucho
<b>Pipetas de transferência descartáveis (1,7 ml)</b>	<b>10</b>	<b>120</b>
<b>CD</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
• Ficheiros de definição do ensaio (Assay Definition Files, ADF)		
• Instruções para importar ADF para o software		
• Instruções de utilização (folheto informativo)		

#### Nota

As Fichas de Dados de Segurança (Safety Data Sheets, SDS) estão disponíveis em [www.cephheid.com](http://www.cephheid.com) ou [www.cephheidinternational.com](http://www.cephheidinternational.com), no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

#### Nota

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

### 6.2 Conservação e manuseamento



• Conserve os cartuchos do ensaio Xpert Carba-R entre 2 °C e 28 °C.

• Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.



• Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.

• O reagente de amostra é um líquido transparente e incolor. Não utilize o reagente de amostra se este ficar turvo ou descolorido.

• Utilize o cartucho no período de 30 minutos depois de abrir a tampa.

• Não utilizar um cartucho com fuga.

### 6.3 Materiais necessários mas não fornecidos

• Sistemas do instrumento GeneXpert Dx ou sistemas GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador, leitor de código de barras, manual do utilizador.

• Para o sistema GeneXpert Dx: Software GeneXpert Dx versão 4.3 ou superior

• Dispositivo de colheita de amostras: Referência Cepheid 900-0370

• Ágar sangue (por ex., Remel™ Blood Agar: número de catálogo R01200 ou equivalente)

• Ágar MacConkey (por ex., Remel™ MacConkey Agar: número de catálogo R01550 ou equivalente)

• Discos de 10 µg de meropenemo (por ex., Discos de teste de suscetibilidade antimicrobiana BD BBL™ Sensi-Disc™, Meropenemo, número de catálogo 231704 ou equivalente)

• Pinça estéril

- Ansas de inoculação de 10 µl estéreis e descartáveis (por ex., Copan: número de catálogo COPS-10, ou Hardy Diagnostics: número de catálogo L2002A ou equivalente)
- Agitador de vórtice
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.

## 7 Advertências e precauções



- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Para utilização apenas com receita médica.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention<sup>15, 16</sup> dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.<sup>17</sup>
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas/placas de ágar com colónias puras.
- As amostras biológicas, os dispositivos de transferência e os cartuchos usados devem ser considerados como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos, exigindo precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).
- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de amostras, para evitar a contaminação de amostras ou de reagentes.
- Não substitua o reagente de amostra do ensaio Xpert Carba-R por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do ensaio Xpert Carba-R até estar pronto para adicionar a amostra.
- Não utilize um cartucho que tiver caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respetiva tampa pode produzir resultados inválidos.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho ou no rótulo do código de barras.
- ② • Cada cartucho de utilização única do ensaio Xpert Carba-R é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Usar batas limpas e luvas. Troque de luvas entre o processamento de cada amostra.
- Na eventualidade da contaminação da área de trabalho ou do equipamento com amostras ou controlos, limpe bem a área contaminada com uma solução de lixívia de cloro doméstica com diluição 1:10 e depois repita a limpeza da área de trabalho com etanol a 70%. Secar as superfícies de trabalho até secarem completamente antes de prosseguir.

## 8 Perigos químicos<sup>18, 19</sup>

- Pictograma de perigo GHS da ONU:
- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
  - **Prevenção**
    - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
    - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
  - **Resposta**
    - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes.
    - Tratamento específico, ver informação de primeiros-socorros suplementar.
    - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
    - Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.

- SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
- Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.
- Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

## 9 Preparação e conservação das amostras

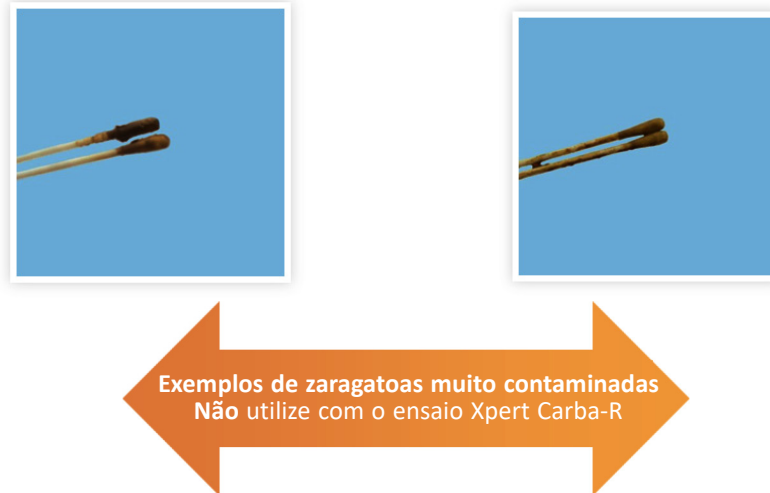
### Amostras de zaragatoa retal e peri-retal:

Para saber que zaragatoas usar, consulte Secção 6.3, Materiais necessários mas não fornecidos.

- Colheita de uma zaragatoa retal emparelhada: Insira cuidadosamente ambas as pontas da zaragatoa aproximadamente 1 cm para além do esfíncter anal e rode suavemente. Consulte “Materiais necessários mas não fornecidos” para saber que zaragatoas usar e a Figura 1 e Figura 2 para exemplos de zaragatoas aceitáveis e inaceitáveis para utilização com o ensaio Xpert Carba-R.
- Colheita de uma zaragatoa peri-retal emparelhada: insira cuidadosamente ambas as pontas da zaragatoa não mais de 1 cm na abertura anal antes do esfíncter anal e rode suavemente.
- As zaragatoas dentro do tubo para transporte podem ser conservadas a uma temperatura entre 15 °C e 28 °C durante um máximo de cinco dias.
- A Figura 1 a seguir proporciona exemplos de amostras aceitáveis de zaragatoa para serem utilizadas com o ensaio Xpert Carba-R e a Figura 2 proporciona exemplos de amostras de zaragatoa altamente contaminadas que não devem ser utilizadas com o ensaio Xpert Carba-R.



Figura 1. Exemplos de amostras de zaragatoas aceitáveis para testes com o Xpert Carba-R



**Figura 2. Exemplos de amostras de zaragatoas inaceitáveis para testes com o ensaio Xpert Carba-R**

#### Isolados bacterianos:

1. Os organismos devem ser identificados e o estado de não suscetibilidade a carbapenemos deve ser determinado em conformidade com o folheto informativo atual aprovado pela FDA dos EUA e com a versão mais recente da orientação M100<sup>20</sup> do CLSI antes da realização de testes no ensaio Xpert Carba-R.
2. Contamine uma placa de ágar sangue ou MacConkey com o organismo, cultive em riscas para isolamento e coloque um disco de 10 µg de meropenemo no primeiro quadrante de riscas, para garantir que o isolado retém a sua não suscetibilidade a carbapenemos.
3. Incube a placa a 35 °C durante 18–24 horas à temperatura ambiente.
4. Utilize o método direto de suspensão de colónias, tocando nas colónias isoladas com uma zaragatoa ou ansa para preparar uma suspensão de McFarland 0,5 do isolado bacteriano conforme descrito na norma aprovada pelo CLSI M07.<sup>21</sup> Os passos também são descritos abaixo.
  - A. Produza uma suspensão das colónias isoladas selecionadas de uma placa de ágar (por ex., um meio não seletivo como ágar sangue que tenha sido incubado durante 18 horas a 24 horas) diretamente em meio líquido ou soro fisiológico.
  - B. Ajuste a suspensão para atingir uma turvação equivalente ao padrão de McFarland 0,5. Isto produz uma suspensão com aproximadamente  $1 \text{ a } 2 \times 10^8$  UFC/ml para *E. coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922.
  - C. Utilize um dispositivo fotométrico ou luz adequada, se realizado visualmente, para comparar o tubo do inóculo e o padrão de McFarland 0,5 com um cartão com um fundo branco e linhas pretas contrastantes.

## 10 Procedimento

### 10.1 Preparação do cartucho

<b>Importante</b>	<b>Coloque o cartucho no instrumento GeneXpert no período de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.</b>
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Remova um cartucho do ensaio Xpert Carba-R, um frasco de reagente de amostra e uma pipeta de transferência do kit. Abra o frasco de reagente de amostra.</li> <li>2. Para adicionar a amostra ao cartucho:           <ul style="list-style-type: none"> <li>• Para amostras de zaragatoa retal ou peri-retal, para adicionar a amostra de zaragatoa ao cartucho:               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Para zaragatoas emparelhadas, coloque uma zaragatoa no frasco de reagente de amostra. Coloque novamente a zaragatoa não utilizada no tubo para transporte e conserve.</li> </ul> </li> </ul> </li> </ol>
<b>Nota</b>	Consulte a Secção 9 para obter as condições de conservação das amostras de zaragatoa retal ou peri-retal. A segunda zaragatoa restante pode ser utilizada para a repetição de testes.



**Nota** Consulte Secção 14, Procedimento de repetição do teste para repetir o teste para amostras de zaragatoa retal ou peri-retal.

- Segure na zaragatoa pela haste perto do bordo do frasco, levante a zaragatoa para cima alguns milímetros do fundo do frasco e dobre a haste sobre a extremidade do frasco de modo a quebrá-la na marca do entalhe, deixando a zaragatoa suficientemente curta para permitir que caiba no frasco e a tampa fique bem fechada.
- Para isolados bacterianos, para adicionar a suspensão de McFarland 0,5 do isolado ao cartucho:
- Agite a suspensão de McFarland 0,5 num agitador de vórtice. Utilizando uma ansa de 10 µl, transfira 10 µl da suspensão de McFarland 0,5 para um frasco de 5 ml de reagente de amostra. Gire a ansa no reagente de amostra três vezes, no mínimo. Após o teste inicial, a amostra restante no frasco de reagente de amostra pode ser conservada entre 2 °C e 28 °C durante até cinco dias caso seja necessário repetir o teste.

**Nota** Consulte Secção 14, Procedimento de repetição do teste para obter instruções sobre como repetir o teste para amostras de isolados bacterianos.

**Nota** Garanta que a ansa de 10 µl está cheia com a amostra e que a suspensão da amostra na ansa não rebenta ao transferir a suspensão de McFarland 0,5 para o reagente de amostra.

3. Feche bem a tampa do frasco de reagente de amostra e agite no agitador de vórtice a velocidade elevada durante 10 segundos.
4. Abra a tampa do cartucho. Abra a tampa do reagente de amostra. Utilizando a pipeta de transferência fornecida, aspire a amostra preparada (reagente de amostra contendo a amostra do Passo 2) até à marcação na pipeta (aproximadamente 1,7 ml; ver Figura 3) e, de seguida, transfira o material para a abertura grande da câmara da amostra (ver Figura 4) do cartucho do ensaio Xpert Carba-R.
5. Feche a tampa do cartucho e coloque o cartucho no instrumento GeneXpert no período de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.

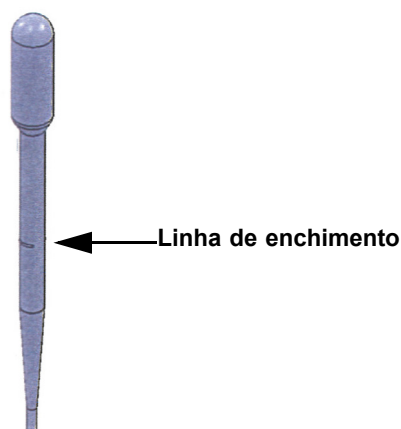


Figura 3. Pipeta de transferência para transferir amostra para o cartucho

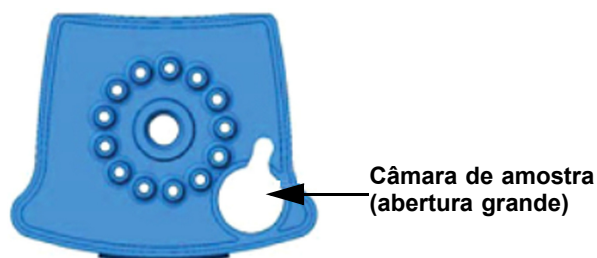


Figura 4. Cartucho do ensaio Xpert Carba-R (vista superior)

## 10.2 Iniciar o teste

### Importante

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio Xpert Carba-R foi importado para o software. Esta secção discrimina os passos básicos para executar o teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity 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. O fluxo de trabalho predefinido é descrito abaixo.

1. Ligue o sistema do instrumento GeneXpert:
  - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. O software GeneXpert iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
  - ou
  - Se utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, ative o instrumento. O software Xpertise iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows.
2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do sistema GeneXpert, clique em **Criar teste (Create Test)** (GeneXpert Dx) ou clique em **Encomendas (Orders)** e em **Encomendar teste (Order Test)** (Infinity).
4. Leia a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do paciente (Patient ID) correta. A ID do paciente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela Ver resultados (View Results).
5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra (Sample ID) correta. A ID da amostra (Sample ID) é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela Ver resultados (View Results).
6. Leia o código de barras do cartucho do ensaio Xpert Carba-R. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: Seleccionar ensaio (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

### Nota

Se o código de barras no cartucho do Xpert Carba-R não for lido, configure um novo teste, seguindo o procedimento de repetição do teste na Secção 14.

7. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe se lhe for solicitada.
8. Para o sistema GeneXpert Infinity, coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.
  - ou
  - No caso do instrumento GeneXpert Dx:
    - A. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
    - B. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz verde desliga-se.
    - C. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo. De seguida, remova o cartucho.
    - D. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos recipientes apropriados para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

### 10.3 Visualização e impressão de resultados

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

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

## 11 Controlo de qualidade

### **CONTROL** Controlos de qualidade integrados

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra e um controlo de verificação da sonda.

- **Controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC)** — Assegura que a amostra foi processada corretamente. O SPC contém esporos de *Bacillus globigii*, sob a forma de uma esfera seca que está incluída em cada cartucho para verificar o processamento adequado da amostra. O SPC verifica se ocorreu a lise da bactéria caso os organismos estejam presentes e 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 validados.

- **Controlo de verificação da sonda (Sample Processing Control, PCC)** — Antes do início da reação PCR, o sistema GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

#### Controlos externos

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

## 12 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpretados pelo sistema GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela Ver resultados (View Results). Não são apresentadas capturas de ecrã nem interpretações para todas as combinações de resultados possíveis com os cinco analitos alvo no ensaio Xpert Carba-R; contudo, os exemplos que se seguem são indicativos do tipo de resultados que podem ser esperados.

#### Nota

A tabela e as figuras seguintes ilustram apenas exemplos representativos dos tipos de resultados que se podem esperar com o ensaio Xpert Carba-R. Não são apresentadas todas as combinações de resultados possíveis com os cinco analitos alvo.

Tabela 1. Resultados representativos e interpretação do ensaio Xpert Carba-R

Resultado	Interpretação
<p><b>IMP DETECTADO (IMP DETECTED);</b>  <b>VIM NÃO DETECTADO (VIM NOT DETECTED);</b>  <b>NDM NÃO DETECTADO (NDM NOT DETECTED);</b>  <b>KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED);</b>  <b>OXA48 NÃO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED)</b></p> <p>Consulte a Figura 5.</p>	<p>A sequência do ADN-alvo de IMP é detetada; as sequências do ADN-alvo de VIM, NDM, KPC e OXA-48 não são detetadas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A amplificação por PCR do ADN-alvo de IMP apresenta um valor de limite de ciclo (cycle threshold, Ct) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior à definição limite; as sequências do ADN-alvo de VIM, NDM, KPC e OXA-48 estão ausentes ou são inferiores ao nível de deteção do ensaio.</li> <li>SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque a amplificação do ADN-alvo de IMP pode interferir com este controlo.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> <li>As estratégias terapêuticas que incluem agentes antimicrobianos, tais como associações de beta-lactâmico/inibidor da beta-lactamase com atividade limitada ou nula contra bactérias produtoras de metalo-beta-lactamases devem ser utilizadas com precaução. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R que demonstrem a presença de genes <i>bla</i><sub>IMP</sub>, <i>bla</i><sub>VIM</sub> e <i>bla</i><sub>NDM</sub> que codificam metalo-beta-lactamase em colónias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infeções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.</li> </ul>
<p><b>IMP NÃO DETECTADO (IMP NOT DETECTED);</b>  <b>VIM DETECTADO (VIM DETECTED);</b>  <b>NDM NÃO DETECTADO (NDM NOT DETECTED);</b>  <b>KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED);</b>  <b>OXA48 NÃO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED)</b></p> <p>Consulte a Figura 6.</p>	<p>A sequência do ADN-alvo de VIM é detetada; as sequências do ADN-alvo de IMP, NDM, KPC e OXA-48 não são detetadas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A amplificação por PCR do ADN-alvo de VIM apresenta um valor de Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior à definição limite; as sequências do ADN-alvo de IMP, NDM, KPC e OXA-48 estão ausentes ou são inferiores ao nível de deteção do ensaio.</li> <li>SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque a amplificação do ADN-alvo de VIM pode interferir com este controlo.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> <li>As estratégias terapêuticas que incluem agentes antimicrobianos, tais como associações de beta-lactâmico/inibidor da beta-lactamase com atividade limitada ou nula contra bactérias produtoras de metalo-beta-lactamases devem ser utilizadas com precaução. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R que demonstrem a presença de genes <i>bla</i><sub>IMP</sub>, <i>bla</i><sub>VIM</sub> e <i>bla</i><sub>NDM</sub> que codificam metalo-beta-lactamase em colónias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infeções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.</li> </ul>
<p><b>IMP NÃO DETECTADO (IMP NOT DETECTED);</b>  <b>VIM DETECTADO (VIM DETECTED);</b>  <b>NDM DETECTADO (NDM DETECTED);</b>  <b>KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED);</b>  <b>OXA48 NÃO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED)</b></p> <p>Consulte a Figura 7.</p>	<p>As sequências do ADN-alvo de VIM e NDM são detetadas; as sequências do ADN-alvo de IMP, KPC e OXA-48 não são detetadas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A amplificação por PCR do ADN-alvo de VIM e NDM apresenta valores de Ct dentro dos intervalos válidos e endpoints (pontos finais) de fluorescência superiores às definições limite; as sequências do ADN-alvo de IMP, KPC e OXA-48 estão ausentes ou são inferiores ao nível de deteção do ensaio.</li> <li>SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque as amplificações do ADN-alvo de VIM e NDM podem interferir com este controlo.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> <li>As estratégias terapêuticas que incluem agentes antimicrobianos, tais como associações de beta-lactâmico/inibidor da beta-lactamase com atividade limitada ou nula contra bactérias produtoras de metalo-beta-lactamases devem ser utilizadas com precaução. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R que demonstrem a presença de genes <i>bla</i><sub>IMP</sub>, <i>bla</i><sub>VIM</sub> e <i>bla</i><sub>NDM</sub> que codificam metalo-beta-lactamase em colónias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infeções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.</li> </ul>

Tabela 1. Resultados representativos e interpretação do ensaio Xpert Carba-R (Continuação)

Resultado	Interpretação
<p><b>IMP DETECTADO (IMP DETECTED);</b>  <b>VIM NÃO DETECTADO (VIM NOT DETECTED);</b>  <b>NDM DETECTADO (NDM DETECTED);</b>  <b>KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED);</b>  <b>OXA48 NÃO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED)</b></p> <p>Consulte a Figura 8.</p>	<p>As sequências do ADN-alvo de IMP e NDM são detetadas; as sequências do ADN-alvo de VIM, KPC e OXA-48 não são detetadas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A amplificação por PCR do ADN-alvo de IMP e NDM apresenta valores de Ct dentro dos intervalos válidos e endpoints (pontos finais) de fluorescência superiores às definições limite; as sequências do ADN-alvo de VIM, KPC e OXA-48 estão ausentes ou são inferiores ao nível de deteção do ensaio.</li> <li>SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque as amplificações do ADN-alvo de IMP e NDM podem interferir com este controlo.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> <li>As estratégias terapêuticas que incluem agentes antimicrobianos, tais como associações de beta-lactâmico/inibidor da beta-lactamase com atividade limitada ou nula contra bactérias produtoras de metalo-beta-lactamases devem ser utilizadas com precaução. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R que demonstrem a presença de genes <i>bla</i><sub>IMP</sub>, <i>bla</i><sub>VIM</sub> e <i>bla</i><sub>NDM</sub> que codificam metalo-beta-lactamase em colónias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infeções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.</li> </ul>
<p><b>IMP DETECTADO (IMP DETECTED);</b>  <b>VIM DETECTADO (VIM DETECTED);</b>  <b>NDM NÃO DETECTADO (NDM NOT DETECTED);</b>  <b>KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED);</b>  <b>OXA48 DETECTADO (OXA48 DETECTED)</b></p> <p>Consulte a Figura 9.</p>	<p>As sequências do ADN-alvo de IMP, VIM e OXA-48 são detetadas; as sequências do ADN-alvo de NDM e KPC não são detetadas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A amplificação por PCR do ADN-alvo de IMP, VIM e OXA-48 apresenta valores de Ct dentro dos intervalos válidos e endpoints (pontos finais) de fluorescência superiores às definições limite; as sequências do ADN-alvo de KPC e NDM estão ausentes ou são inferiores ao nível de deteção do ensaio.</li> <li>SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque as amplificações do ADN-alvo de IMP, VIM e OXA-48 podem interferir com este controlo.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> <li>As estratégias terapêuticas que incluem agentes antimicrobianos, tais como associações de beta-lactâmico/inibidor da beta-lactamase com atividade limitada ou nula contra bactérias produtoras de metalo-beta-lactamases devem ser utilizadas com precaução. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R que demonstrem a presença de genes <i>bla</i><sub>IMP</sub>, <i>bla</i><sub>VIM</sub> e <i>bla</i><sub>NDM</sub> que codificam metalo-beta-lactamase em colónias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infeções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.</li> </ul>
<p><b>IMP DETECTADO (IMP DETECTED);</b>  <b>VIM DETECTADO (VIM DETECTED);</b>  <b>NDM DETECTADO (NDM DETECTED);</b>  <b>KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED);</b>  <b>OXA48 DETECTADO (OXA48 DETECTED)</b></p> <p>Consulte a Figura 10.</p>	<p>As sequências do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM e OXA-48 são detetadas; a sequência do ADN-alvo de KPC não é detetada.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A amplificação por PCR do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM e OXA-48 apresenta valores de Ct dentro dos intervalos válidos e endpoints (pontos finais) de fluorescência superiores às definições limite; a sequência do ADN-alvo de KPC está ausente ou é inferior ao nível de deteção do ensaio.</li> <li>SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque as amplificações do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM e OXA-48 podem interferir com este controlo.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> <li>As estratégias terapêuticas que incluem agentes antimicrobianos, tais como associações de beta-lactâmico/inibidor da beta-lactamase com atividade limitada ou nula contra bactérias produtoras de metalo-beta-lactamases devem ser utilizadas com precaução. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R que demonstrem a presença de genes <i>bla</i><sub>IMP</sub>, <i>bla</i><sub>VIM</sub> e <i>bla</i><sub>NDM</sub> que codificam metalo-beta-lactamase em colónias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infeções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.</li> </ul>

Tabela 1. Resultados representativos e interpretação do ensaio Xpert Carba-R (Continuação)

Resultado	Interpretação
<b>IMP DETECTADO</b> <b>(IMP DETECTED);</b> <b>VIM DETECTADO</b> <b>(VIM DETECTED);</b> <b>NDM DETECTADO</b> <b>(NDM DETECTED);</b> <b>KPC DETECTADO</b> <b>(KPC DETECTED);</b> <b>OXA48 DETECTADO</b> <b>(OXA48 DETECTED)</b>  Consulte a Figura 11.	As sequências do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 são detetadas. <ul style="list-style-type: none"> <li>A amplificação por PCR do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 apresenta valores de Ct dentro dos intervalos válidos e endpoints (pontos finais) de fluorescência superiores às definições limite.</li> <li>SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque as amplificações do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 podem interferir com este controlo.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> <li>As estratégias terapêuticas que incluem agentes antimicrobianos, tais como associações de beta-lactâmico/inibidor da beta-lactamase com atividade limitada ou nula contra bactérias produtoras de metalo-beta-lactamases devem ser utilizadas com precaução. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R que demonstrem a presença de genes <i>bla</i><sub>IMP</sub>, <i>bla</i><sub>VIM</sub> e <i>bla</i><sub>NDM</sub> que codificam metalo-beta-lactamase em colónias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infeções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.</li> </ul>
<b>IMP NÃO DETECTADO</b> <b>(IMP NOT DETECTED);</b> <b>VIM NÃO DETECTADO</b> <b>(VIM NOT DETECTED);</b> <b>NDM NÃO DETECTADO</b> <b>(NDM NOT DETECTED);</b> <b>KPC NÃO DETECTADO</b> <b>(KPC NOT DETECTED);</b> <b>OXA48 NÃO DETECTADO</b> <b>(OXA48 NOT DETECTED)</b>  Consulte a Figura 12.	As sequências do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 não são detetadas. <ul style="list-style-type: none"> <li>As sequências do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 estão ausentes ou são inferiores ao nível de deteção do ensaio.</li> <li>SPC: APROVADO (PASS); a amplificação por PCR da sequência do ADN do SPC apresenta um valor de Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior à definição limite.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<b>INVÁLIDO</b> <b>(INVALID)</b>  Consulte a Figura 13.	A presença ou ausência de sequências do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 14, Procedimento de repetição do teste. <ul style="list-style-type: none"> <li>SPC: FALHOU (FAIL); sem amplificação por PCR da sequência do ADN do SPC ou o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido e o endpoint (ponto final) de fluorescência é inferior à definição limite.</li> <li>PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<b>ERRO</b> <b>(ERROR)</b>	A presença ou ausência de sequências do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 14, Procedimento de repetição do teste. <ul style="list-style-type: none"> <li>SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>PCC: FALHOU (FAIL)*; um ou mais dos resultados de verificação da sonda falharam. O PCC falhou provavelmente porque o tubo de reação não foi adequadamente enchido ou porque foi detetado um problema de integridade da sonda.</li> </ul> <p>* Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.</p>
<b>SEM RESULTADO</b> <b>(NO RESULT)</b>	A presença ou ausência de sequências do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 14, Procedimento de repetição do teste. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste (por exemplo, o utilizador parou um teste que estava em curso ou ocorreu uma falha de alimentação). <ul style="list-style-type: none"> <li>SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>PCC: Não aplicável</li> </ul>

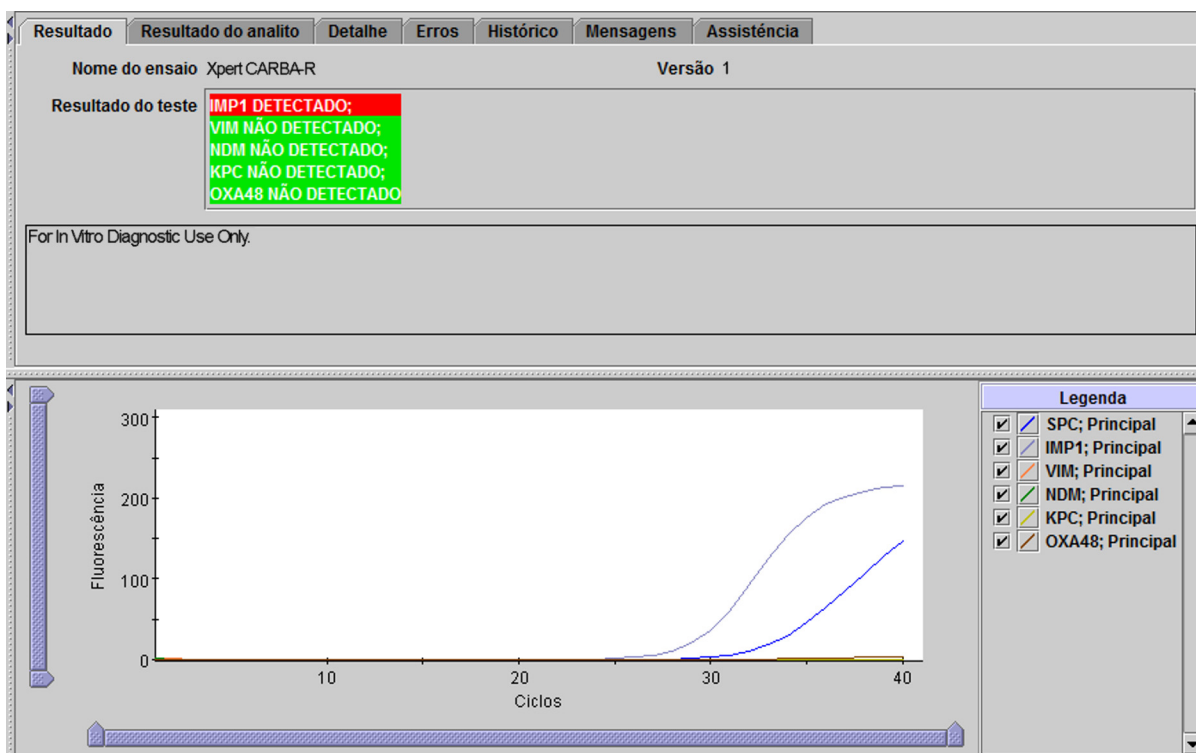


Figura 5. Ensaio Carba-R – IMP Detectado

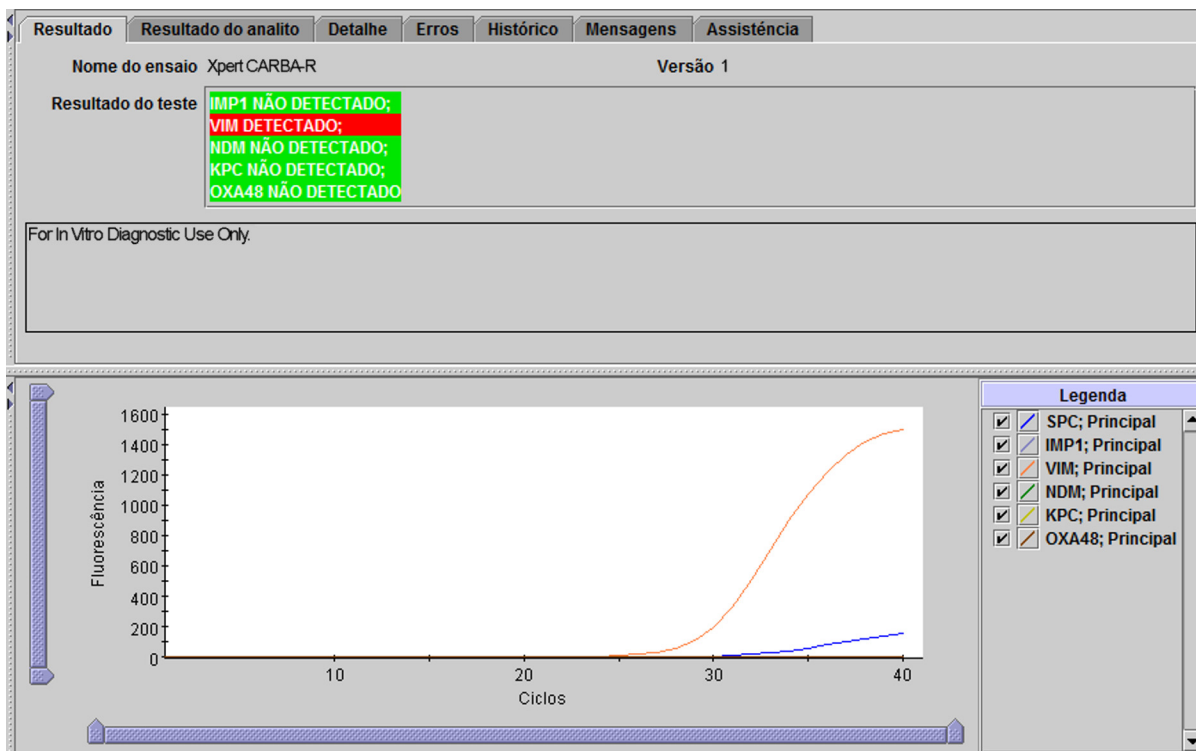
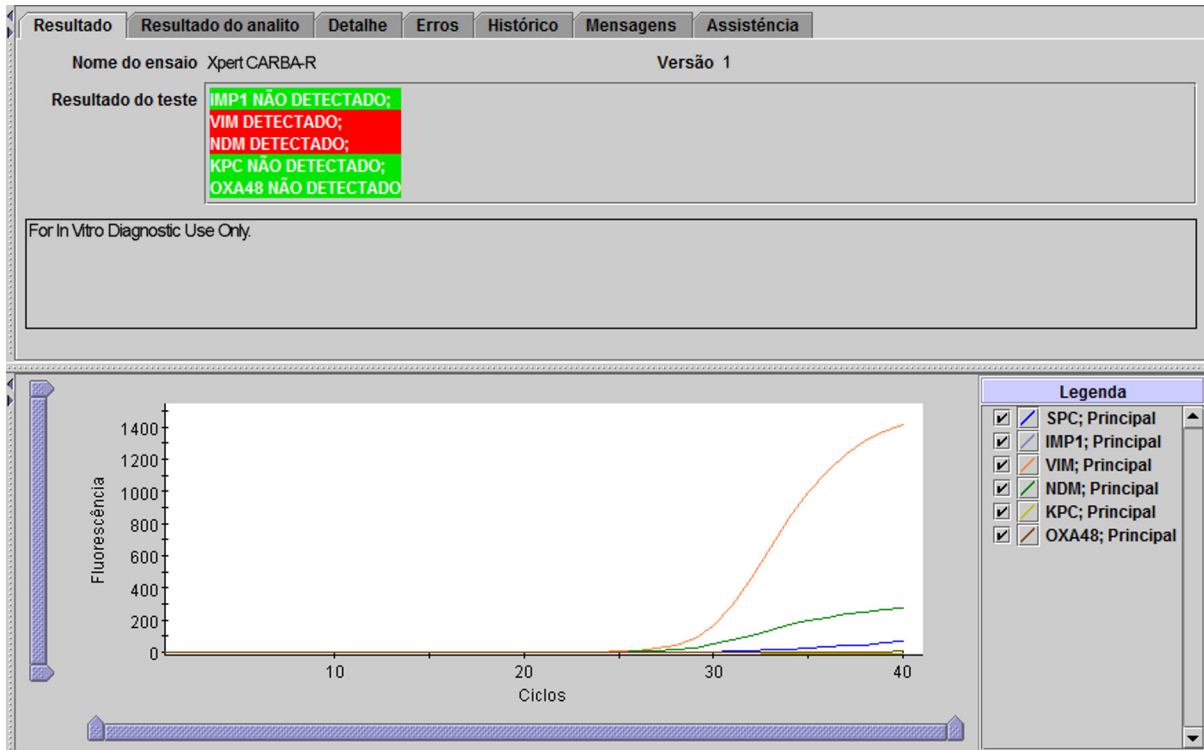
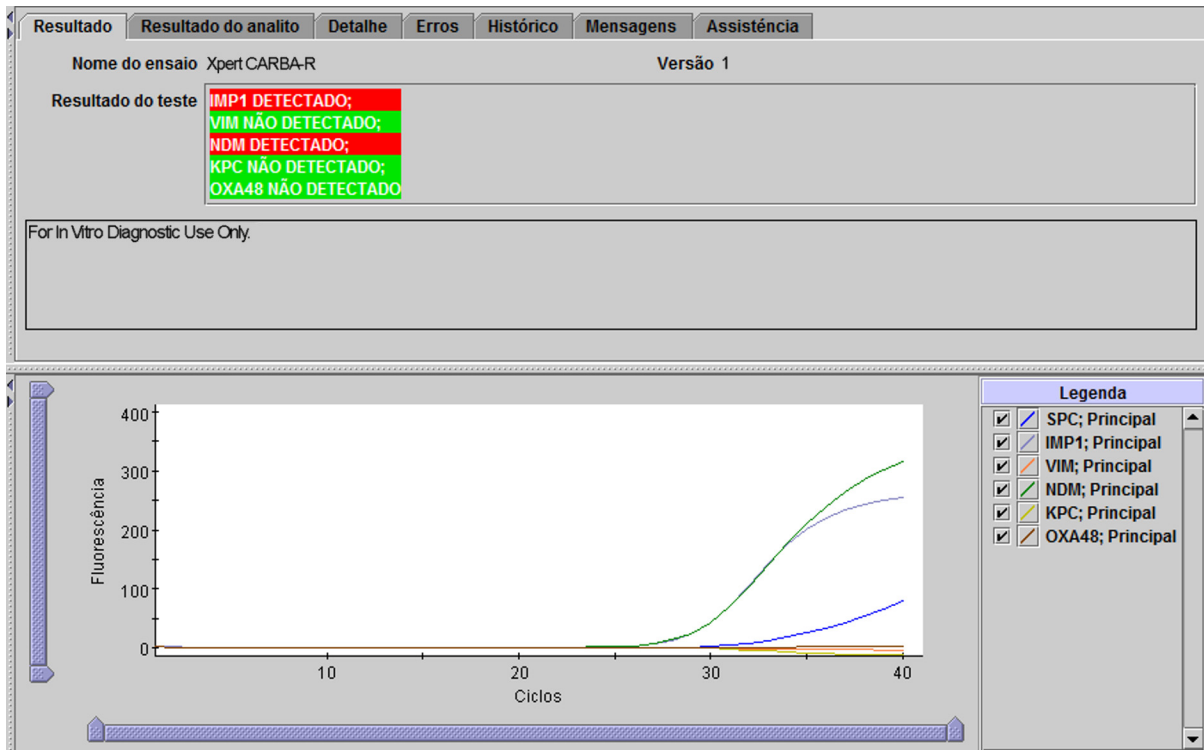


Figura 6. Ensaio Carba-R – VIM Detectado

**Nota** Não são apresentados exemplos de NDM positivo, KPC positivo e OXA positivo.



**Figura 7. Ensaio Carba-R – VIM e NDM Detectado**



**Figura 8. Ensaio Carba-R – IMP e NDM Detectado**



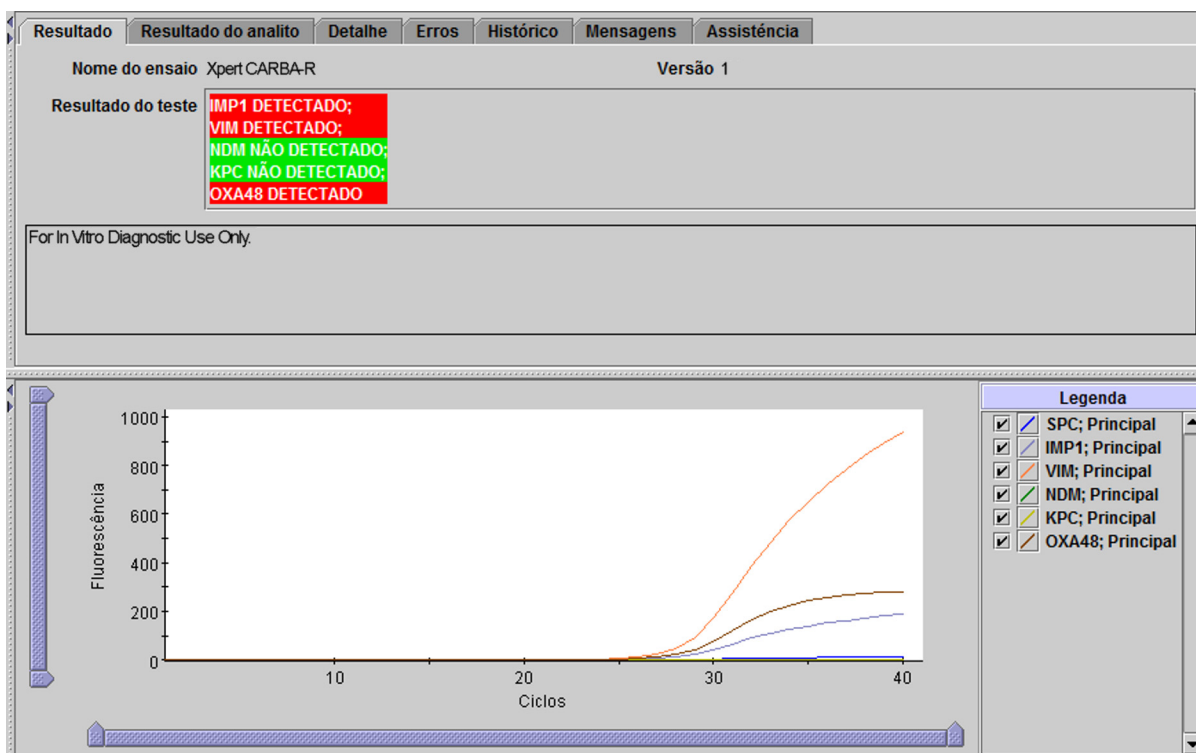


Figura 9. Ensaio Carba-R – IMP, VIM e OXA-48 Detectado

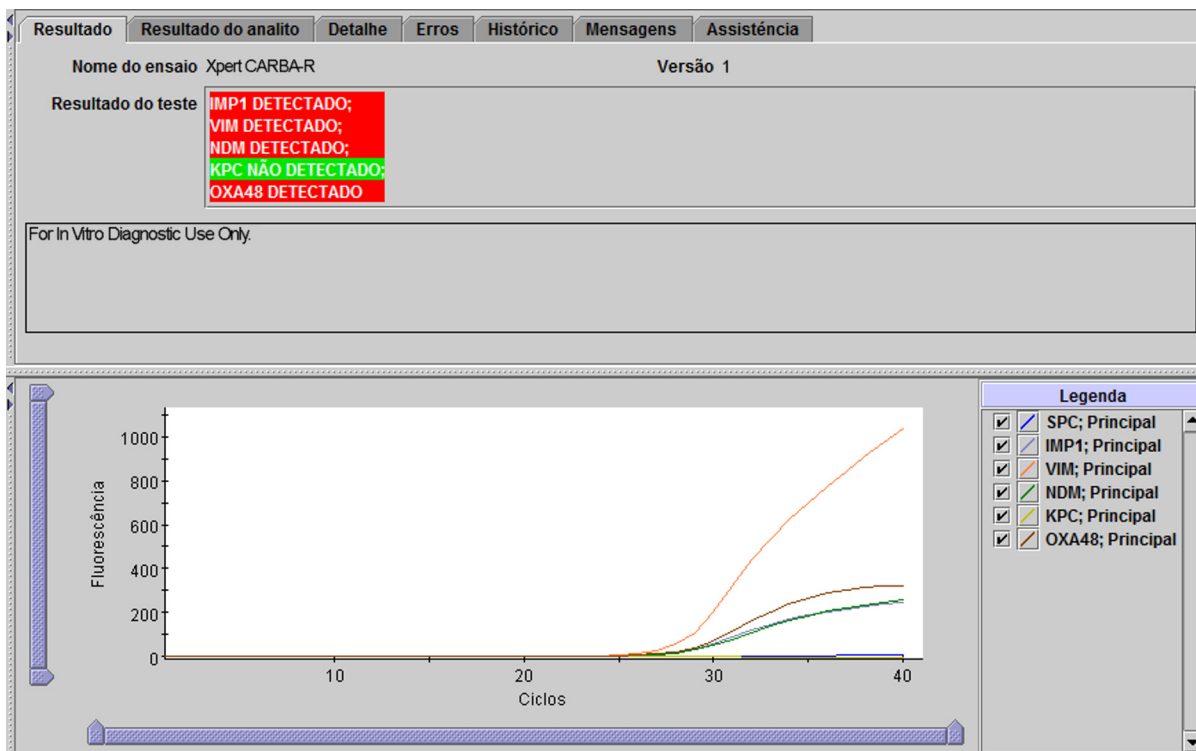


Figura 10. Ensaio Carba-R – IMP, VIM, NDM e OXA-48 Detectado

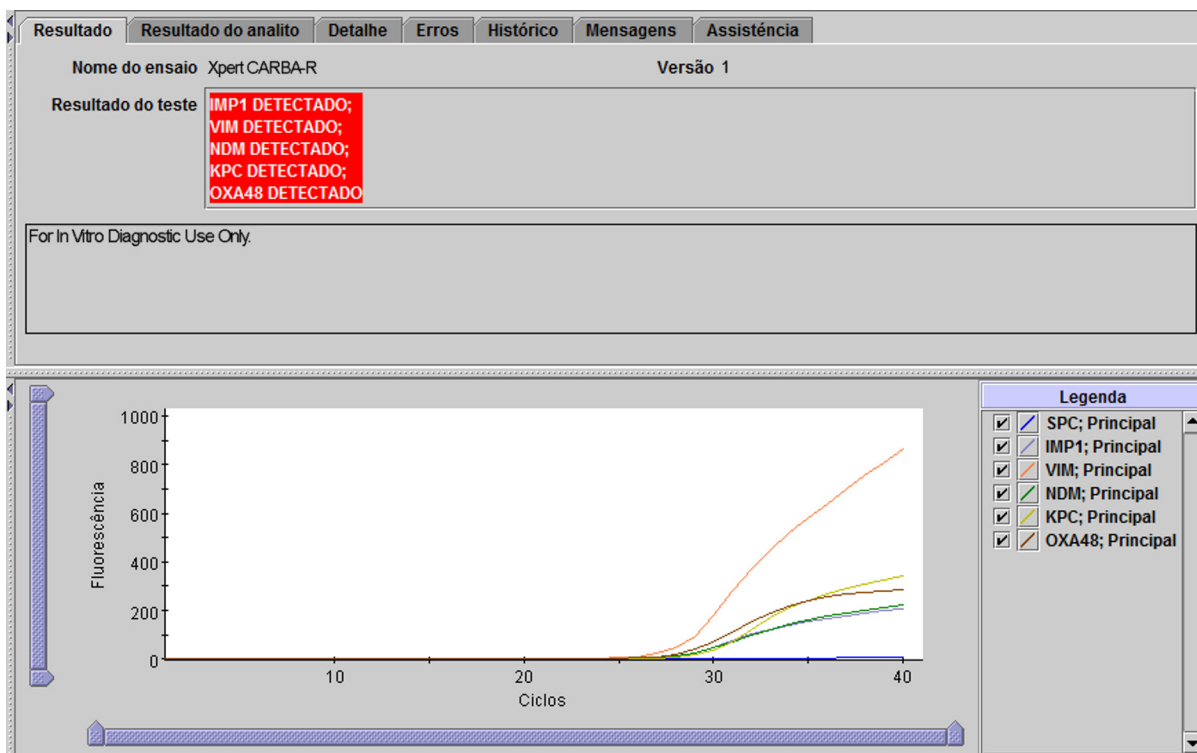


Figura 11. Ensaio Carba-R – IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 Detectado

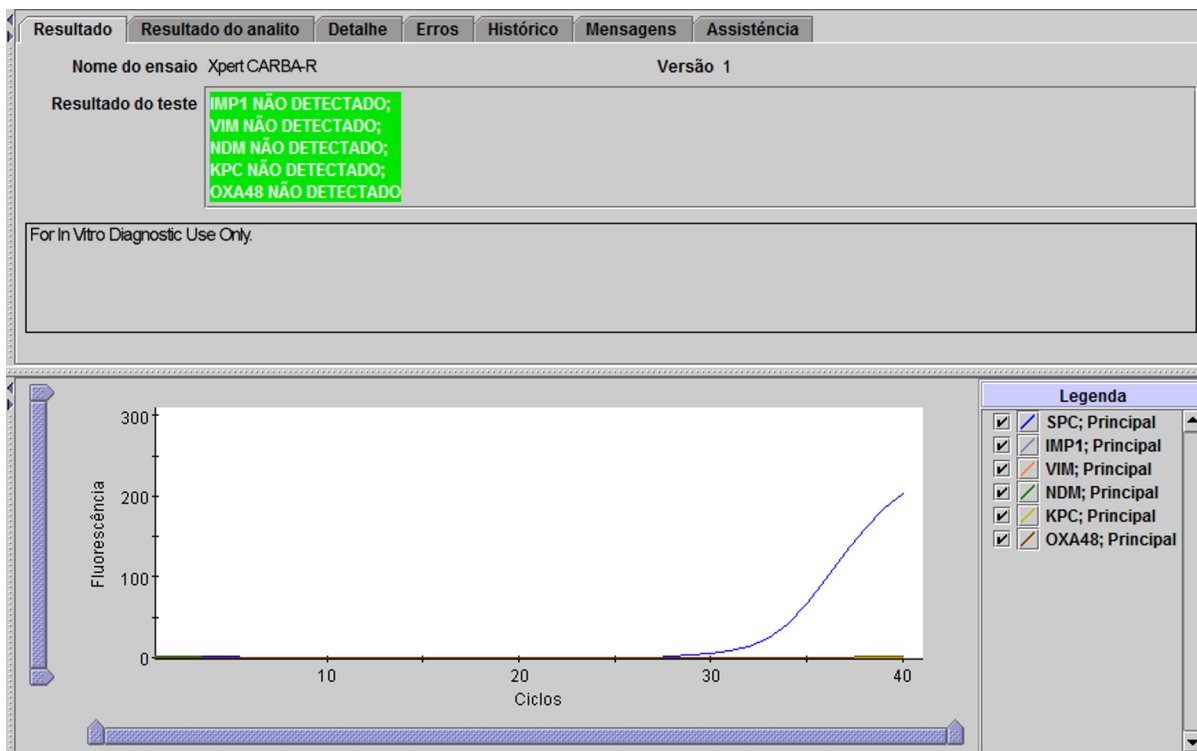


Figura 12. Ensaio Carba-R – IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 Não Detectado

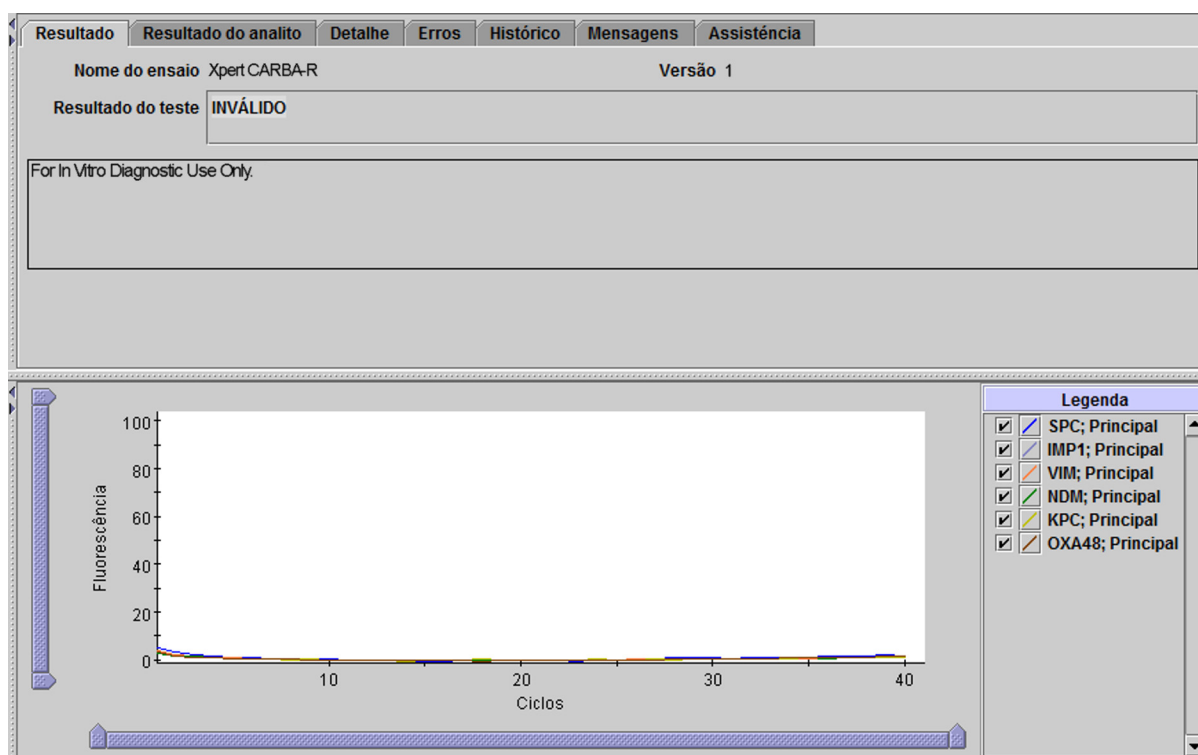


Figura 13. Ensaio Carba-R – Inválido

### 13 Motivos para repetir o teste

Repita o teste utilizando um cartucho novo (não reutilize o cartucho) e um frasco de reagente de amostra novo. Para o procedimento de repetição de teste, consulte a Secção 14, Procedimento de repetição do teste.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o controlo SPC falhou. A amostra não foi adequadamente processada ou a PCR foi inibida ou o volume da amostra adicionada era inadequado.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o controlo de verificação da sonda falhou e que o ensaio foi abortado, possivelmente devido ao tubo de reação não ter sido adequadamente enchido, à deteção de um problema de integridade da sonda de reagente, a terem sido excedidos os limites de pressão máxima, ou ter sido detetado um erro de posicionamento da válvula.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.
- Se o desempenho do controlo externo não for o esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a Assistência Técnica da Cepheid para assistência.

### 14 Procedimento de repetição do teste

#### 14.1 Procedimento de repetição do teste para amostras de zaragatoa retal e peri-retal

1. Retire um cartucho novo, um frasco de reagente de amostra novo e uma pipeta de transferência nova do kit.
2. Retire a zaragatoa restante do recipiente de transporte.
3. Insira a zaragatoa num frasco novo de reagente de amostra. Segure na zaragatoa pela haste perto do bordo do frasco, levante a zaragatoa para cima alguns milímetros do fundo do frasco e dobre a haste sobre a extremidade do frasco de modo a quebrá-la na marca do entalhe, deixando a zaragatoa suficientemente curta para permitir que caiba no frasco e a tampa fique bem fechada.
4. Feche bem a tampa do novo frasco de reagente de amostra e agite no agitador de vórtice a velocidade elevada durante 10 segundos.
5. Abra a tampa do cartucho. Utilizando a pipeta de transferência fornecida, aspire o reagente de amostra até à marcação na pipeta e, de seguida, transfira o material para a câmara da amostra do cartucho do ensaio Carba-R Xpert.
6. Feche a tampa do cartucho e coloque o cartucho no instrumento GeneXpert no prazo de 30 minutos. Siga Secção 10.2, Iniciar o teste.

## 14.2 Procedimento de repetição do teste para amostras de isolados bacterianos

1. Retire um cartucho novo, um frasco de reagente de amostra novo e uma pipeta de transferência nova do kit.
2. Transfira todo o conteúdo da amostra restante no frasco de reagente de amostra para o novo frasco de reagente de amostra.
3. Feche bem a tampa do novo frasco de reagente de amostra e agite no agitador de vórtice a velocidade elevada durante 10 segundos.
4. Abra a tampa do cartucho. Utilizando a pipeta de transferência fornecida, aspire o reagente de amostra até à marcação na pipeta e, de seguida, transfira o material para a câmara da amostra do cartucho do ensaio Carba-R Xpert.
5. Feche a tampa do cartucho e coloque o cartucho no instrumento GeneXpert no prazo de 30 minutos. Siga Secção 10.2, Iniciar o teste.

### Nota

Para isolados bacterianos, não realize o procedimento de repetição do teste mais do que uma vez, dado que diluições repetidas podem produzir resultados falsos negativos.

## 15 Limitações

### 15.1 Limitações gerais

- O ensaio Xpert Carba-R deteta *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>IMP</sub> de amostras de zaratoga retal e peri-retal e de colónias puras, não se destinando à identificação de bactérias. A deteção destas sequências genéticas não indica a presença de organismos viáveis.
- O ensaio Xpert Carba-R não é um instrumento de subtipagem e não indica variantes dos genes *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub> ou *bla*<sub>OXA-48</sub>.
- Certas espécies de bactérias, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, demonstraram apresentar resistência a carbapenemos devido a mecanismos de resistência intrínsecos.
- Não se avaliou no estudo a deteção de outros genes de OXA-carbapenemase para além de *bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>OXA-181</sub>.
- As análises *in silico* utilizadas para prever as variantes detetadas pelo ensaio baseiam-se numa comparação de sequências de genes-alvo disponíveis no GenBank com os oligonucleótidos de iniciador/sonda e a sequência de produto da amplificação para cada gene-alvo no ensaio Xpert Carba-R. As pesquisas de análises *in silico* no BLAST foram realizadas em 2014 e 2015. Não foram realizadas análises *in silico* de sequências de genes de novas variantes introduzidas na base de dados após 2015 para os cinco genes-alvo.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador ou da sonda podem afetar a deteção de variantes atuais, novas ou desconhecidas de *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>IMP</sub>, originando um resultado falso negativo.
- O ensaio Xpert Carba-R irá gerar um resultado negativo para IMP ao testar amostras contendo as sequências genéticas IMP-7, IMP-13 ou IMP-14.
- Desconhece-se o desempenho do ensaio Xpert Carba-R com organismos que integrem genes carbapenemase não alvo além de *bla*<sub>SPM</sub>, *bla*<sub>SME</sub> e *bla*<sub>IMI</sub>.
- Dado que a deteção das sequências de genes *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>IMP</sub> depende do número de organismos presentes na amostra, os resultados fiáveis dependem do manuseamento e da conservação corretos da amostra.
- Os testes com o ensaio Xpert Carba-R devem ser utilizados como auxiliares de outros métodos disponíveis.
- O resultado do ensaio Xpert Carba-R pode por vezes ser **INVÁLIDO (INVALID)**, devido a uma falha do controlo SPC, ou **ERRO (ERROR)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, sendo necessária a repetição do teste, o que poderá atrasar a obtenção de resultados finais.

### 15.2 Limitações das amostras retais e peri-retais

- O desempenho do ensaio Xpert Carba-R não foi avaliado com amostras de zaratoga retal ou peri-retal provenientes de pacientes pediátricos.
- Estudos analíticos utilizando associações de duas populações bacterianas em amostras de zaratogas manipuladas indicam que quando uma espécie bacteriana produtora de carbapenemases é inoculada perto do LoD e outra espécie bacteriana produtora de carbapenemases está presente com concentrações iguais ou superiores a  $5 \times 10^6$  UFC/zaratoga, o alvo com concentração baixa pode não ser detetado. A colonização concomitante com dois ou mais organismos produtores de carbapenemases foi comunicada com o ensaio Xpert Carba-R, mas é rara. A ausência de deteção de um segundo alvo deve ter um impacto mínimo no controlo do paciente, pois estariam instituídos procedimentos de isolamento para pacientes com algum resultado positivo para um organismo produtor de carbapenemases.

- Podem ser observadas interferências com o ensaio Xpert Carba-R com sulfato de bário > 0,1% p/v e Pepto-Bismol > 0,01% p/v em testes com amostras de matriz de zaragatoa retal.
- Podem ser observadas interferências com o ensaio Xpert Carba-R com sulfato de bário > 0,1% p/v e Pepto-Bismol > 0,025% p/v em testes com amostras de matriz de zaragatoas peri-retais.
- Em amostras de zaragatoa retal contendo o alvo VIM, poderá ocorrer interferência se estiver presente gordura fecal com uma concentração 0,25% p/v, resultando em valores retardados do limiar do ciclo.
- Para além dos grupos de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* testados no estudo manipulado, outras não-*Enterobacteriaceae* foram também avaliadas: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzae* (1), *Pseudomonas putida* (2) e *Empedobacter brevis* (1). O desempenho do ensaio Xpert Carba-R com outras não-*Enterobacteriaceae* para além destas seis espécies não foi avaliado e é, por isso, desconhecido.
- Para amostras de zaragatoa retal, o ensaio Xpert Carba-R demonstrou uma redução da percentagem de concordância positiva (PPA de 55,6%) para a deteção da sequência genética *bla*<sub>VIM</sub> em *Pseudomonas aeruginosa*. Foram observados quatro (4) resultados falsos negativos com o ensaio com amostras nas quais foi recuperada *Pseudomonas aeruginosa* contendo a sequência *bla*<sub>VIM</sub> pelo método de referência.
- Para amostras de zaragatoa retal, o ensaio Xpert Carba-R demonstrou uma redução da percentagem de concordância positiva (PPA de 85,7%) para a deteção da sequência genética *bla*<sub>IMP</sub> em *Acinetobacter baumannii* durante o estudo manipulado. Além disso, foi observada uma baixa % de concordância total (86,1%) entre centros para o estudo de reprodutibilidade com amostras contendo concentrações baixas do organismo portador da sequência genética *bla*<sub>IMP</sub>.
- Os anaeróbios resistentes a carbapenemos potencialmente presentes em amostras fecais não foram avaliados pelo ensaio Xpert Carba-R.
- A deteção de *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub> e/ou *bla*<sub>IMP</sub> de amostras de zaragatoa retal e peri-retal pode ser de organismos que não *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*.
- O desempenho do ensaio Xpert Carba-R com isolados suscetíveis contendo as sequências genéticas *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub> e/ou *bla*<sub>IMP</sub> não foi totalmente avaliado.

### 15.3 Limitações das colónias puras

- Para colónias puras, não se avaliou o desempenho do ensaio Xpert Carba-R com bactérias que não sejam *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii*. Os organismos devem ser identificados e o estado de não suscetibilidade a carbapenemos deve ser determinado antes da realização de testes no ensaio Xpert Carba-R.
- Resultados de teste incorretos podem ser originados por técnicas de cultura inadequadas, incumprimento do procedimento recomendado para preparar a suspensão de McFarland 0,5, procedimentos de manuseamento e conservação de amostras, erro técnico, troca de amostras ou porque o número de organismos na amostra é demasiado baixo para ser detetado pelo teste. Para se evitarem resultados incorretos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.

## 16 Valores esperados

No estudo clínico do ensaio Xpert Carba-R, um total de 2543 amostras, consistindo em amostras de zaragatoa retal e peri-retal e amostras manipuladas, foi avaliado em 8 centros do estudo, dentro e fora dos EUA. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R em comparação com análises de cultura e de sequenciação de ADN bidirecional por gene-alvo para cada uma das amostras manipuladas e combinadas prospetivas é apresentado na Tabela 2.

Num outro estudo clínico com ensaio Xpert Carba-R, avaliaram-se no total 467 isolados bacterianos em 4 centros do estudo, dentro e fora dos EUA. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R em comparação com uma análise de sequenciação de ADN bidirecional por gene-alvo para cada um dos dois tipos de ágar são apresentados na Tabela 8, Tabela 9, Tabela 10, Tabela 11 e Tabela 12.

## 17 Características do desempenho

### 17.1 Desempenho clínico - Amostras de zaratogoa retal e peri-retal

As características do desempenho do ensaio Xpert Carba-R com amostras de zaratogoa retal e peri-retal foram determinadas num estudo de investigação multicêntrico. A percentagem de concordância positiva (PPA) e a percentagem de concordância negativa (NPA) do ensaio Xpert Carba-R foram avaliadas relativamente a um método de referência de cultura (caldo de enriquecimento MacConkey) e análise de sequenciação de ADN bidirecional/PCR.

Oito centros geograficamente diferentes (seis nos EUA e dois na Europa) colheram prospetivamente amostras de zaratogoa retal ou peri-retal emparelhadas de participantes hospitalizados ou numa instituição de cuidados prolongados. As amostras de zaratogoa retal e peri-retal muito contaminadas, de acordo com as instruções da Secção 9 (Preparação e conservação de amostras) foram excluídas do estudo. Devido à baixa prevalência de cada um dos genes-alvo do ensaio Xpert Carba-R na ausência de um surto, foram também incluídas amostras manipuladas no estudo.

Uma zaratogoa do par foi utilizada para testes com o ensaio Xpert Carba-R. A segunda zaratogoa foi inoculada em caldo de enriquecimento MacConkey e utilizada para testes pelo método de referência. Um laboratório de cultura de referência determinou a presença de organismos não suscetíveis a carbapenemos fazendo culturas em caldo de enriquecimento MacConkey com cada uma das amostras. O caldo de enriquecimento MacConkey foi despistado relativamente à presença de organismos não suscetíveis a carbapenemos, inicialmente plaqueando o caldo em placas de ágar MacConkey com um disco de meropenemo. Para amostras com crescimento de bactérias Gram-negativo em redor do disco de meropenemo, a confirmação da não suscetibilidade a carbapenemos foi determinada em colónias isoladas utilizando o método de difusão de disco (segundo o documento M02 do CLSI, bem como o documento M100<sup>20</sup> do CLSI). O ADN extraído dos isolados não suscetíveis a carbapenemos foi purificado, quantificado e amplificado usando iniciadores específicos para todos os 5 genes-alvo; as regiões amplificadas incluíam mais bases do as regiões amplificadas pelo ensaio Xpert Carba-R. A produção de produto da amplificação de tamanho adequado foi confirmada no Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA).

Se as bandas mostradas no Bioanalyzer correspondiam ao tamanho esperado para o produto da amplificação de qualquer um dos cinco genes-alvos detetados pelo ensaio Xpert Carba-R, o produto da amplificação para o isolado era enviado para um laboratório independente para análise de sequenciação bidirecional de referência, que era validada para a deteção dos cinco alvos no ensaio Xpert Carba-R. Se não eram mostradas nenhuma das bandas no Bioanalyzer para qualquer um dos cinco genes-alvo, o isolado não era enviado para análise de sequência e o resultado do método de referência era considerado negativo para os cinco genes-alvo.

#### Resultados das amostras prospetivas obtidos com o ensaio Xpert Carba-R em comparação com o método de referência

Um total de 802 amostras de zaratogoa retal prospetivas foi inicialmente incluído neste estudo clínico, das quais 785 eram elegíveis para inclusão. Das 785 amostras elegíveis, 755 amostras foram incluídas no conjunto de dados final após exclusões baseadas em desvios em relação ao protocolo (incluindo 16 organismos *Stenotrophomonas maltophilia* que foram excluídos devido à sua resistência intrínseca aos carbapenemos testados).

Um total de 963 amostras de zaratogoa peri-retal prospetivas foi inicialmente recrutado para este estudo clínico, das quais 947 eram elegíveis para inclusão. Das 947 amostras elegíveis, 924 amostras foram incluídas no conjunto de dados final após exclusões baseadas em desvios em relação ao protocolo (incluindo 10 organismos *Stenotrophomonas maltophilia*, um *Pseudomonas putida* e um *Pseudomonas stutzeri* que foram excluídos devido aos critérios de desenho do estudo).

Quando testado com amostras de zaratogoa retal prospetivas, o ensaio Xpert Carba-R demonstrou um intervalo de PPA de 60,0% a 100% para os quatro alvos do ensaio ( $bla_{KPC}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$  e  $bla_{OXA-48}$ ) relativamente ao método de referência (Tabela 2). A NPA para as sequências genéticas  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{OXA-48}$  e  $bla_{IMP}$  variou entre 98,6% e 99,9% relativamente ao método de referência (Tabela 2).

Quando testado com amostras de zaratogoa peri-retal prospetivas o ensaio Xpert Carba-R demonstrou uma percentagem de concordância positiva (PPA) de 100% para os três alvos do ensaio ( $bla_{NDM}$ ,  $bla_{KPC}$  e  $bla_{OXA-48}$ ) relativamente ao método de referência. A percentagem de concordância negativa (NPA) para as sequências genéticas  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{OXA-48}$  e  $bla_{IMP}$  variou entre 99,6% e 100% relativamente ao método de referência (Tabela 2).

Quando testado com amostras de zaratogoa retal e peri-retal prospetivas, o ensaio Xpert Carba-R demonstrou um intervalo de PPA de 60,0% a 100% para os quatro alvos do ensaio ( $bla_{KPC}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$  e  $bla_{OXA-48}$ ) relativamente ao método de referência (Tabela 2). A NPA para as sequências genéticas  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{OXA-48}$  e  $bla_{IMP}$  variou entre 99,3% e 99,9% relativamente ao método de referência (Tabela 2).

Para as amostras com resultados discordantes (o ensaio Xpert Carba-R foi positivo para um gene-alvo mas não foi isolado um organismo não suscetível a carbapenemos pela cultura de referência), a análise discordante foi realizada utilizando sequenciação bidirecional em ADN extraído diretamente do caldo de enriquecimento MacConkey. Os resultados discrepantes dos testes são apresentados em rodapé na Tabela 2.

**Tabela 2. Desempenho global do Xpert Carba-R vs. cultura de referência + sequenciação - amostras prospetivas**

Tipo de amostra	Alvo	N	VP	FP	VN	FN	PPA (IC 95%)	NPA (IC 95%)
Retal <sup>a</sup>	IMP	755	0	1 <sup>b</sup>	754	0	NA	99,9% (99,3-100)
	VIM	755	6	8 <sup>c</sup>	737	4	60,0% (31,3-83,2)	98,9% (97,9-99,5)
	NDM	755	7	3 <sup>d</sup>	745	0	100% (64,6-100)	99,6% (98,8-99,9)
	KPC	755	29	6 <sup>e,f</sup>	720	0	100% (88,3-100)	99,2% (98,2-99,6)
	OXA-48	755	29	10 <sup>g</sup>	715	1	96,7% (83,3-99,4)	98,6% (97,5-99,2)
Peri-retal <sup>h</sup>	IMP	924	0	0	924	0	NA	100% (99,6-100)
	VIM	924	0	0	924	0	NA	100% (99,6-100)
	NDM	924	1	0	923	0	100% (20,7-100)	100% (99,6-100)
	KPC	924	2	4 <sup>i</sup>	918	0	100% (34,2-100)	99,6% (98,9-99,8)
	OXA-48	924	1	1 <sup>j</sup>	922	0	100% (20,7-100)	99,9% (99,4-100)
Combinadas <sup>a,h</sup>	IMP	1679	0	1 <sup>b</sup>	1678	0	NA	99,9% (99,7-100)
	VIM	1679	6	8 <sup>c</sup>	1661	4	60,0% (31,3-83,2)	99,5% (99,1-99,8)
	NDM	1679	8	3 <sup>d</sup>	1668	0	100% (67,6-100)	99,8% (99,5-99,9)
	KPC	1679	31	10 <sup>k</sup>	1638	0	100% (89,0-100)	99,4% (98,9-99,7)
	OXA-48	1679	30	11 <sup>l</sup>	1637	1	96,8% (83,8-99,4)	99,3% (98,8-99,6)

N = número, VP = verdadeiro positivo, FP = falso positivo, VN = verdadeiro negativo, FN = falso negativo

- Das 755 amostras de zaragatoa retal prospetivas avaliadas no estudo, 636 amostras não produziram um isolado em cultura. Das restantes 119 amostras, foram recuperados 112 organismos não suscetíveis a carbapenemos pela cultura de referência, para além de 7 organismos suscetíveis a carbapenemos [*Pseudomonas aeruginosa* (5), *Escherichia coli* (1) e *Enterobacter cloacae* (1)].
- Resultados de teste por sequenciação: 1 em 1 era negativo para IMP.
- Resultados de teste por sequenciação: 2 em 8 eram positivos para VIM; 6 em 8 eram negativos para VIM.
- Resultados de teste por sequenciação: 1 em 3 eram positivos para NDM; 2 em 3 eram negativos para NDM.
- Resultados de teste por sequenciação: 1 em 6 eram positivos para KPC; 5 em 6 eram negativos para KPC.
- O centro comunicou que o participante estava a tomar ertapenem durante o período de colheita de amostras.
- Resultados de teste por sequenciação: 3 em 10 eram positivos para OXA-48; 7 em 10 eram negativos para OXA-48.
- Das 924 amostras de zaragatoa peri-retal prospetivas avaliadas no estudo, 891 amostras não produziram um isolado em cultura. Das restantes 33 amostras, foram recuperados 31 organismos não suscetíveis a carbapenemos pela cultura de referência, para além de dois organismos suscetíveis a carbapenemos (*Pseudomonas aeruginosa*).
- Resultados de teste por sequenciação: 4 em 4 eram negativos para KPC.
- Resultados de teste por sequenciação: 1 em 1 era negativo para OXA-48.
- Resultados de teste por sequenciação: 1 em 10 eram positivos para KPC; 9 em 10 eram negativos para KPC.
- Resultados de teste por sequenciação: 3 em 11 eram positivos para OXA-48; 8 em 11 eram negativos para OXA-48.

O desempenho do ensaio Xpert Carba-R em amostras retais e peri-retais prospetivas combinadas é apresentado na Tabela 3 por espécie. Apenas organismos para os quais, pelo menos, uma amostra positiva foi colhida estão incluídos na Tabela 3.

**Tabela 3. Desempenho do Xpert Carba-R vs. cultura de referência + sequenciação por tipo de organismo - amostras retais e peri-retais prospetivas**

Espécies <sup>a</sup>	Alvo	N	VP	FP	VN	FN	PPA (IC 95%)	NPA (IC 95%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	IMP	1	0	0	1	0	NA	100% (20,7-100)
	VIM	1	0	0	1	0	NA	100% (20,7-100)
	NDM	1	0	0	1	0	NA	100% (20,7-100)
	KPC	1	1	0	0	0	100% (20,7-100)	NA
	OXA-48	1	0	0	1	0	NA	100% (20,7-100)
<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP	4	0	0	4	0	NA	100% (51,0-100)
	VIM	4	1	0	3	0	100% (20,7-100)	100% (43,9-100)
	NDM	4	0	0	4	0	NA	100% (51,0-100)
	KPC	4	0	0	4	0	NA	100% (51,0-100)
	OXA-48	4	1	0	3	0	100% (20,7-100)	100% (43,9-100)
<i>E. coli</i>	IMP	10	0	0	10	0	NA	100% (72,3-100)
	VIM	10	0	0	10	0	NA	100% (72,3-100)
	NDM	10	3	0	7	0	100% (43,9-100)	100% (67,6-100)
	KPC	10	2	0	8	0	100% (34,2-100)	100% (64,6-100)
	OXA-48	10	3	0	7	0	100% (43,9-100)	100% (64,6-100)



**Tabela 3. Desempenho do Xpert Carba-R vs. cultura de referência + sequenciação por tipo de organismo - amostras retais e peri-retais prospetivas (Continuação)**

Espécies <sup>a</sup>	Alvo	N	VP	FP	VN	FN	PPA (IC 95%)	NPA (IC 95%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP	1	0	0	1	0	NA	100% (20,7-100)
	VIM	1	0	0	1	0	NA	100% (20,7-100)
	NDM	1	0	0	1	0	NA	100% (20,7-100)
	KPC	1	0	0	1	0	NA	100% (20,7-100)
	OXA-48	1	1	0	0	0	100% (20,7-100)	NA
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP	63	0	1	62	0	NA	98,4% (91,5-99,7)
	VIM	63	0	1	62	0	NA	98,4% (91,5-99,7)
	NDM	63	5	1	57	0	100% (56,6-100)	98,3% (90,9-99,7)
	KPC	63	28	1	34	0	100% (87,9-100)	97,1% (85,5-99,5)
	OXA-48	63	25	3	34	1	96,2% (81,1-99,3)	91,9% (78,7-97,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	58	0	0	58	0	NA	100% (93,8-100)
	VIM	58	5	0	49	4	55,6% (26,7-81,1)	100% (92,7-100)
	NDM	58	0	1	57	0	NA	98,3% (90,9-99,7)
	KPC	58	0	2	56	0	NA	96,6% (88,3-99,1)
	OXA-48	58	0	0	58	0	NA	100% (93,8-100)

a. Foram recuperados *Acinetobacter baumannii* (14) e *Enterobacter amnigenus* (1) mas não continham sequências-alvo pelo método de referência ou pelo ensaio Xpert Carba-R.

Foram detetados múltiplos alvos pelo ensaio Xpert Carba-R em nove amostras prospetivas. Os detalhes são fornecidos na Tabela 4, juntamente com o resultado discrepante da sequenciação.

**Tabela 4. Amostras prospetivas retais e peri-retais com múltiplos alvos detetados**

Amostra	Alvos detetados pelo ensaio Xpert Carba-R	Alvos detetados pela sequenciação de referência	Resultados discrepantes dos testes - Alvos detetados pela sequenciação de referência
1	KPC, OXA-48	NEGAT. (NEG)	NEGAT. (NEG)
2	VIM, KPC	NEGAT. (NEG) <sup>a</sup>	NEGAT. (NEG) <sup>a</sup>
3	VIM, OXA-48	OXA-48	OXA-48
4	KPC, OXA-48	KPC	KPC, OXA-48
5	NDM, OXA-48	NDM	NDM, OXA-48
6	VIM, NDM	NEGAT. (NEG) <sup>a</sup>	NEGAT. (NEG)
7	NDM, KPC	KPC	NDM, KPC
8	VIM, KPC	VIM	VIM, KPC
9	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48	NA

- a. Um organismo não foi isolado da cultura de referência, por conseguinte, a sequenciação de referência não efetuada.

#### Resultados das amostras manipuladas obtidos com o ensaio Xpert Carba-R em comparação com o método de referência

Um total de 864 amostras manipuladas (432 preparadas numa matriz de zaragatoas retais e 432 em matriz peri-retal) foram também testadas como parte do estudo clínico.

Para além dos grupos de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* testados no estudo manipulado, 5 outras estirpes não-*Enterobacteriaceae* foram também avaliadas: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzae* (1), *Pseudomonas putida* (2) e *Empedobacter brevis* (1).

Quando testado com amostras manipuladas, o ensaio Xpert Carba-R demonstrou um intervalo de PPA entre 95% e 100% para os alvos do ensaio ( $bla_{KPC}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{OXA-48}$  e  $bla_{IMP}$ ). A NPA para as sequências genéticas  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{OXA-48}$  e  $bla_{IMP}$  foi de 100% relativamente ao método de referência (Tabela 5).

**Tabela 5. Desempenho do Xpert Carba-R vs. método de referência – Amostras manipuladas**

Matriz	Alvo	N	VP	FP	VN	FN	PPA (IC 95%)	NPA (IC 95%)
Retal	IMP	432	76	0	352	4	95,0% (87,8-98,0)	100% (98,9-100)
	VIM	432	81	0	350	1	98,8% (93,4-99,8)	100% (98,9-100)
	NDM	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	KPC	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	OXA-48	432	79	0	352	1	98,8% (93,3-99,8)	100% (98,9-100)

**Tabela 5. Desempenho do Xpert Carba-R vs. método de referência – Amostras manipuladas (Continuação)**

Matriz	Alvo	N	VP	FP	VN	FN	PPA (IC 95%)	NPA (IC 95%)
Peri-retal	IMP	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	VIM	432	82	0	350	0	100% (95,5-100)	100% (98,9-100)
	NDM	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	KPC	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	OXA-48	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
Combinado	IMP	864	156	0	704	4	97,5% (93,7-99,0)	100% (99,5-100)
	VIM	864	163	0	700	1	99,4% (96,6-99,9)	100% (99,5-100)
	NDM	864	160	0	704	0	100% (97,7-100)	100% (99,5-100)
	KPC	864	160	0	704	0	100% (97,7-100)	100% (99,5-100)
	OXA-48	864	159	0	704	1	99,4% (96,5-99,9)	100% (99,5-100)

**Estudo de equivalência de zaragatoa retal e peri-retal**

Para demonstrar a equivalência entre amostras de zaragatoa retal e peri-retal, foi realizado um estudo num centro com inclusão de amostras de zaragatoa retal e peri-retal recém-colhidas prospetivamente de participantes que deram o seu consentimento e que eram pacientes internados em hospitais.

Foram utilizados conjuntos de pares de zaragatoas fornecidos no dispositivo de colheita de amostras da Cepheid para colher amostras de cada um dos participantes. Um conjunto de pares de zaragatoas foi utilizado para colher a amostra de zaragatoa peri-retal e outro conjunto idêntico para colher a amostra de zaragatoa retal. A amostra de zaragatoa peri-retal foi colhida em primeiro lugar, seguida da amostra de zaragatoa retal do mesmo participante. Uma zaragatoa de cada conjunto de pares de zaragatoa foi utilizada para o teste com o ensaio Xpert Carba-R. A segunda zaragatoa de cada conjunto de pares de zaragatoa foi utilizada para cultura e testes de suscetibilidade quando uma ou ambas as amostras de zaragatoa peri-retal ou retal eram positivas para um ou mais dos alvos, segundo o ensaio Xpert Carba-R. Não eram efetuadas culturas se ambas as amostras de zaragatoa peri-retal e retal fossem negativas, segundo o ensaio Xpert.

Foi efetuada a sequenciação bidirecional de ADN do ADN extraído de colónias isoladas que manifestaram ausência de suscetibilidade aos carbapenems pelo método de difusão de disco CLSI ou no caldo MacConkey com disco de meropenem se o resultado da cultura fosse negativo e o resultado do ensaio Xpert Carba-R fosse positivo. Os resultados do método de referência não foram utilizados para alterar os dados de desempenho do estudo de equivalência de zaragatoas.

Um total de 207 amostras foi inicialmente recrutado para este estudo clínico, das quais todas foram elegíveis para inclusão. Das 207 amostras elegíveis, 201 amostras foram incluídas do conjunto de dados final utilizado para as análises. Seis amostras de zaragatoa (4 amostras peri-retais e 2 retais) foram excluídas devido a resultados indeterminados com o ensaio Xpert Carba-R.

Das 201 amostras incluídas nas análises de dados, 92 (45,8%) foram colhidas de mulheres e 109 (54,2%) de homens. Globalmente, 45,8% (92/201) das amostras foram colhidas de participantes com idade entre os 21 e os 65 anos e 54,2% (109/201) eram de participantes com >65 anos de idade.

O desempenho (PPA e NPA) do ensaio Xpert Carba-R utilizando amostras de zaragatoa peri-retal foi determinado relativamente aos resultados do ensaio Xpert Carba-R utilizando amostras de zaragatoa retal do mesmo participante. As estimativas da PPA e da NPA são apresentadas na Tabela 6. Relativamente ao resultado das amostras de zaragatoa retal no ensaio Xpert Carba-R, as amostras de zaragatoa peri-retal demonstraram uma PPA e NPA globais de 94,7% (IC de 95%: 75,4-99,1) e de 97,8% (IC de 95%: 94,5-99,1), respetivamente.

**Tabela 6. Ensaio Xpert Carba-R - Amostras de zaragatoa peri-retal vs. amostras de zaragatoa retal**

Ensaio Xpert Carba-R – Amostras de zaragatoa retal				
Ensaio Xpert Carba-R – Amostras de zaragatoa peri-retal		Posit.	Negat.	Total
	Posit.	18 <sup>a</sup>	4 <sup>b</sup>	22
	Negat.	1 <sup>c</sup>	178	179
	Total	19	182	201
PPA			94,7% (IC de 95%: 75,4-99,1)	
NPA			97,8% (IC de 95%: 94,5-99,1)	

- Para uma amostra, o teste Xpert realizado na zaragatoa retal foi positiva para KPC e OXA-48 e na zaragatoa peri-retal foi positiva apenas para OXA-48. A amostra foi registada como cultura negativa para as zaragatoas retal e peri-retal. Os resultados da sequência dos caldos MacConkey foram negativos para OXA-48 na zaragatoa peri-retal e positivos para OXA-48 na zaragatoa retal.
- Duas (2) das 4 tiveram cultura positiva para as zaragatoas retal e peri-retal, os resultados da sequência de isolados foram ambos OXA-48 positivo, 1 em 4 tiveram cultura negativa para as zaragatoas retal e peri-retal, os resultados da sequência do isolado retal não estavam disponíveis pois o isolado não foi guardado, o isolado peri-retal foi interpretado com suscetível a carbapemenes e a sequenciação, segundo o protocolo, não era necessária.
- Cultura negativa para as zaragatoas retal e peri-retal, os resultados da sequência dos caldos MacConkey foram ambos OXA-48 positivo.

## 17.2 Desempenho clínico - Isolados bacterianos

As características do desempenho do ensaio Xpert Carba-R com isolados bacterianos foram determinadas num estudo de investigação em vários locais comparando o ensaio Xpert Carba-R com a sequenciação bidirecional de referência para o ADN-alvo amplificado. As amostras do estudo incluíram isolados bacterianos cultivados tanto em ágar sangue como em ágar MacConkey.

Para serem incluídos no estudo, os isolados tinham de ter sido previamente identificados como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii*. Para a determinação da sensibilidade, os isolados tinham de ter sido intermédios ou resistentes a meropenemo, ertapenemo e/ou imipenemo, segundo a orientação CLSI M100-S24.<sup>22</sup> Os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii* tinham de ter sido intermédios ou resistentes a imipenemo ou meropenemo. Estes organismos são intrinsecamente resistentes a ertapenemo. Para a avaliação da especificidade, os isolados podiam ter sido suscetíveis ou resistentes a meropenemo, ertapenemo e imipenemo, segundo a orientação CLSI M100-S24.<sup>22</sup> Os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* deviam ter sido suscetíveis tanto a imipenemo como a meropenemo. Os isolados só foram testados uma vez no estudo.

Foram inicialmente inscritos neste estudo clínico 489 isolados bacterianos (431 isolados de material clínico de referência e 58 isolados frescos) no total, dos quais 485 foram elegíveis para inclusão. Os isolados não elegíveis incluíram quatro isolados previamente inscritos no estudo.

Dos 485 isolados elegíveis, 467 isolados (410 isolados de material clínico de referência e 57 isolados frescos) foram incluídos no conjunto de dados final utilizado para as análises apresentadas neste relatório; dois isolados foram excluídos porque os testes de referência não foram realizados e dezasseis isolados foram excluídos porque não foram identificados como *Enterobacteriaceae*, *A. baumannii* ou *P. aeruginosa*.

Para os testes com o ensaio Xpert Carba-R, as colónias bem isoladas cultivadas em cada um dos tipos de ágar foram diluídas até se obter uma suspensão equivalente ao padrão de McFarland 0,5 utilizando o método direto de suspensão de colónias segundo a norma CLSI M07-A9.<sup>23</sup>

Para a sequenciação de referência, o ADN de isolados de cultura foi purificado, quantificado e amplificado utilizando iniciadores específicos para todos os 5 genes-alvo que foram concebidos para amplificar regiões maiores dos alvos do ensaio do que os iniciadores do ensaio Xpert Carba-R. A produção do produto da amplificação de tamanho adequado foi confirmada no Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA).

Se as bandas mostradas no Bioanalyzer correspondiam ao tamanho esperado para o produto da amplificação de qualquer um dos cinco genes-alvos detetados pelo ensaio Xpert Carba-R, o produto da amplificação para o isolado era enviado para um laboratório independente para análise de sequenciação bidirecional de referência, que era validada para a detecção dos cinco alvos no ensaio Xpert Carba-R. Se não eram mostradas nenhuma das bandas no Bioanalyzer para qualquer um dos cinco genes-alvo, o isolado não era enviado para análise de sequência e o resultado do método de referência era considerado negativo para os cinco genes-alvo.

Foram detetados vários alvos pelo ensaio Xpert Carba-R nas amostras de dez isolados. Os detalhes são fornecidos na Tabela 7, juntamente com o resultado da sequenciação de referência.

**Tabela 7. Isolados com vários alvos detetados**

Isolado	Tipo de ágar <sup>a</sup>	Alvos detetados pelo ensaio Xpert Carba-R	Alvos detetados pela sequenciação de referência
1	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
2	AS	VIM, KPC	VIM
3	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
4	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
5	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
6	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
7	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
8	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
9	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
10	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48

a. AS = ágar sangue; MC = ágar MacConkey

Quando testado com isolados de ágar sangue, o ensaio Xpert Carba-R demonstrou ter sensibilidade e especificidade globais de 100,0% (IC de 95%: 99,0–100) e 98,1% (IC de 95%: 93,2–99,5), respectivamente, em relação à sequenciação de referência realizada a partir dos isolados de ágar sangue (Tabela 8). O resultado combinado foi definido como positivo para o ensaio Xpert Carba-R se qualquer um dos alvos era positivo e como negativo para o ensaio Xpert Carba-R se todos os alvos eram negativos.

**Tabela 8. Xpert Carba-R (ágar sangue) vs. sequenciação de referência (isolado cultivado em ágar sangue) — combinado**

Alvo	N	VP	FP	VN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
Combinado	467	364 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	101	0	100% (99,0-100)	98,1% (93,2-99,5)

a. Os resultados combinados representam os resultados por isolado. Foram observados vários resultados de alvo para alguns isolados.

Quando testado com isolados de ágar sangue, o ensaio Xpert Carba-R demonstrou ter sensibilidade e especificidade de > 99% para cada um dos cinco alvos do ensaio, em comparação com a sequenciação de referência realizada a partir dos isolados de ágar sangue (Tabela 9).

Para os isolados com valores discordantes entre o ensaio Xpert Carba-R e a sequenciação de referência, os resultados discrepantes foram testados utilizando sequenciação bidirecional em isolados de placas de ágar MacConkey. Os resultados discrepantes dos testes são apresentados em rodapé na Tabela 9 e Tabela 11.

**Tabela 9. Xpert Carba-R (ágar sangue) vs. sequenciação de referência (isolado cultivado em ágar sangue) — por alvo**

Alvo	N	VP	FP	VN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
IMP	467	40	1 <sup>a</sup>	426	0	100% (91,2-100)	99,8% (98,7-100)
VIM	467	82	1 <sup>b</sup>	384	0	100% (95,5-100)	99,7% (98,5-100)
NDM	467	78	0	389	0	100% (95,3-100)	100% (99,0-100)
KPC	467	84	1 <sup>c</sup>	382	0	100% (95,6-100)	99,7% (98,5-100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100% (95,9-100)	100% (99,0-100)

- O resultado da sequenciação de ADN bidirecional para este isolado IMP falso positivo apresentou uma homologia de sequência de 92,95%, que está ligeiramente abaixo do critério de cutoff de 95%. Não foram realizados testes de resultados discrepantes.
- Resultados discrepantes dos testes: 1 de 1 foi positivo para VIM.
- Este isolado falso positivo deve-se provavelmente a contaminação cruzada de KPC ao nível da preparação das amostras. Os testes de resultados discrepantes não produziram uma correspondência da sequência com o alvo de KPC. Os testes de resultados discrepantes produziram uma correspondência da sequência para o alvo de VIM e, portanto, este isolado é classificado como VP na avaliação de resultado “combinado” apresentada na Tabela 8, acima.

Quando testado com isolados de ágar MacConkey, o ensaio Xpert Carba-R demonstrou ter sensibilidade e especificidade globais de 100% (IC de 95%: 99,0–100) e 97,1% (IC de 95%: 91,8–99,0), respetivamente, em relação à sequenciação de referência realizada a partir dos isolados de ágar sangue (Tabela 10). O resultado combinado foi definido como positivo para o ensaio Xpert Carba-R se qualquer um dos alvos era positivo e como negativo para o ensaio Xpert Carba-R se todos os alvos eram negativos.

**Tabela 10. Xpert Carba-R (ágar MacConkey) vs. sequenciação de referência (isolado cultivado em ágar sangue) — combinado**

Alvo	N	VP	FP	VN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
Combinado	467	364 <sup>a</sup>	3	100	0	100% (99,0-100)	97,1% (91,8-99,0)

- Os resultados combinados representam os resultados por isolado. Foram observados vários resultados de alvo para alguns isolados.

Quando testado com isolados de ágar MacConkey, o ensaio Xpert Carba-R demonstrou ter sensibilidade e especificidade > 99% para cada um dos cinco alvos do ensaio, em comparação com a sequenciação de referência realizada a partir dos isolados de ágar sangue (Tabela 11).

**Tabela 11. Xpert Carba-R (ágar MacConkey) vs. sequenciação de referência (isolado cultivado em ágar sangue) — por alvo**

Alvo	N	VP	FP	VN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
IMP	467	40	1 <sup>a</sup>	426	0	100% (91,2-100)	99,8% (98,7-100)
VIM	467	82	1 <sup>b</sup>	384	0	100% (95,5-100)	99,7% (98,5-100)
NDM	467	78	1 <sup>c</sup>	388	0	100% (95,3-100)	99,7% (98,6-100)
KPC	467	84	0	383	0	100% (95,6-100)	100% (99,0-100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100% (95,9-100)	100% (99,0-100)

- O resultado da sequenciação de ADN bidirecional para este isolado IMP falso positivo apresentou uma homologia de sequência de 92,95%, que está ligeiramente abaixo do critério de cutoff de 95%. Não foram realizados testes de resultados discrepantes.
- Resultados discrepantes dos testes: 1 de 1 foi positivo para VIM.
- O centro clínico indicou que uma caracterização interna deste isolado falso positivo antes dos testes do estudo resultou num gene-alvo NDM positivo. Os testes de resultados discrepantes não produziram uma correspondência da sequência para nenhum dos 5 genes-alvo.

O desempenho do ensaio Xpert Carba-R por grupo de organismo específico é mostrado na Tabela 12 tanto para meio de ágar sangue como de ágar MacConkey. O resultado global foi definido como positivo para o ensaio Xpert Carba-R se qualquer um dos alvos era positivo e como negativo para o ensaio Xpert Carba-R se todos os alvos eram negativos.

**Tabela 12. Xpert Carba-R vs. sequenciação de referência**

Meio	Organismos	Alvo	N	VP	FP	VN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	
	<i>Enterobacteriaceae</i>	IMP	343	4	0	339	0	100% (51,0-100)	100% (98,9-100)	
		VIM	343	51	1	291	0	100% (93,0-100)	99,7% (98,1-99,9)	
		NDM	343	73	0	270	0	100% (95,0-100)	100% (98,6-100)	
		KPC	343	83	1	259	0	100% (95,6-100)	99,6% (97,9-99,9)	
		OXA-48	343	89	0	254	0	100% (95,9-100)	100% (98,5-100)	
		Global	343	291 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	51	0	100% (98,7-100)	98,1% (89,9-99,7)	
			IMP	80	16	1	63	0	100% (80,6-100)	98,4% (91,7-99,7)
			VIM	80	31	0	49	0	100% (89,0-100)	100% (92,7-100)

Tabela 12. Xpert Carba-R vs. sequenciação de referência (Continuação)

Meio	Organismos	Alvo	N	VP	FP	VN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
Ágar MacConkey	<i>Enterobacteriaceae</i>	IMP	343	4	0	339	0	100% (51,0-100)	100% (98,9-100)
		VIM	343	51	1	291	0	100% (93,0-100)	99,7% (98,1-99,9)
		NDM	343	73	1	269	0	100% (95,0-100)	99,6% (97,9-99,9)
		KPC	343	83	0	260	0	100% (95,6-100)	100% (98,5-100)
		OXA-48	343	89	0	254	0	100% (95,9-100)	100% (98,5-100)
		Global	343	291 <sup>a</sup>	2	50	0	100% (98,7-100)	96,2% (87,0-98,9)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	80	16	1	63	0	100% (80,6-100)	98,4% (91,7-99,7)
		VIM	80	31	0	49	0	100% (89,0-100)	100% (92,7-100)
		NDM	80	0	0	80	0	NA	100% (95,4-100)
		KPC	80	1	0	79	0	100% (20,7-100)	100% (95,4-100)
		OXA-48	80	0	0	80	0	NA	100% (95,4-100)
		Global	80	48	1	31	0	100% (92,6-100)	96,9% (84,3-99,5)
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP	44	20	0	24	0	100% (83,9-100)	100% (86,2-100)
		VIM	44	0	0	44	0	NA	100% (92,0-100)
		NDM	44	5	0	39	0	100% (56,6-100)	100% (91,0-100)
		KPC	44	0	0	44	0	NA	100% (92,0-100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	NA	100% (92,0-100)
		Global	44	25	0	19	0	100% (86,7-100)	100% (83,2-100)

a. Os resultados globais representam os resultados por isolado. Foram observados vários resultados de alvo para alguns isolados.



Os resultados do ensaio Xpert Carba-R por fenótipo são apresentados na Tabela 13 e Tabela 14, abaixo. Os resultados fenotípicos basearam-se na identificação do organismo e nos resultados de suscetibilidade para cada um dos isolados. O resultado combinado foi definido como positivo para o ensaio Xpert Carba-R se qualquer um dos cinco alvos do ensaio era positivo e como negativo para o ensaio Xpert Carba-R se todos os cinco alvos do ensaio eram negativos. Um fenótipo não suscetível significa que o isolado era intermédio ou resistente a pelo menos um carbapenemo. Um fenótipo suscetível significa que o isolado era suscetível a imipenemo, meropenemo e ertapenemo.

**Tabela 13. Xpert Carba-R (ágar sangue) vs. fenótipo — combinado**

		Resultados fenotípicos		
Xpert Carba-R		Não suscetível	Suscetível	Total
	Gene detetado	356	10	366
	Gene não detetado	95	6	101
	<b>Total</b>	<b>451</b>	<b>16</b>	<b>467</b>

**Tabela 14. Xpert Carba-R (ágar MacConkey) vs. fenótipo — combinado**

		Resultados fenotípicos		
Xpert Carba-R		Não suscetível	Suscetível	Total
	Gene detetado	357	10 <sup>a</sup>	367
	Gene não detetado	94 <sup>b</sup>	6	100
	<b>Total</b>	<b>451</b>	<b>16</b>	<b>467</b>

- Os 10 isolados que são fenotípicamente suscetíveis a carbapenemos mas positivos no ensaio Xpert Carba-R podem conter mutações que inativam ou reduzem a expressão do gene de resistência a carbapenemos detetado pelo ensaio Xpert Carba-R.
- Os 94 isolados que são fenotípicamente não suscetíveis a carbapenemos mas negativos no ensaio Xpert Carba-R podem conter outros mecanismos de resistência a carbapenemos, como beta-lactamases AmpC ou beta-lactamases de espectro alargado em combinação com mutações de porina, ou potencialmente outros genes de resistência a carbapenemos que não são detetados pelo ensaio Xpert Carba-R.

Entre os 934 testes realizados (467 isolados x 2 tipos de ágar), um apresentou inicialmente um resultado **SEM RESULTADO (NO RESULT)** (0,10%, IC de 95%: 0,00-0,58). O isolado apresentou resultados válidos após a repetição do ensaio. A taxa global de resultados válidos indicados pelo ensaio foi de 100% (934/934).

## 18 Desempenho analítico

### 18.1 Sensibilidade analítica (Limite de deteção) - Zaragatoas retais e peri-retais

A sensibilidade analítica ou limite de deteção (LoD) do ensaio Xpert Carba-R foi avaliada com organismos produtores de carbapenemases semeados em matriz de zaragatoas retais humanas negativas agrupadas e em matriz de zaragatoas peri-retais humanas negativas agrupadas. O LoD foi determinado para duas bactérias produtoras de carbapenemases para cada analito do gene, ou seja, os genes que codificam KPC, NDM, VIM, OXA-48 e IMP. As bactérias foram tituladas por contagens em placa e semeadas em zaragatoas limpas. As zaragatoas foram colocadas na matriz de zaragatoas retais negativas agrupadas ou na matriz de zaragatoas peri-retais negativas agrupadas e foram avaliados replicados de 20 para um mínimo de cinco concentrações diferentes ao longo de quatro dias. O LoD para cada um dos dez organismos produtores de carbapenemases foi estimado por análise pelo método de probit. O LoD é definido como a concentração mais baixa de células alvo (UFC/zaragatoa) que pode ser distinguida de forma reprodutível das amostras negativas com uma confiança de 95%. O estudo foi realizado com dois lotes diferentes de reagentes Xpert Carba-R e o LoD pretendido é o mais elevado das duas determinações. Os LoD estimados foram verificados preparando e testando 10 réplicas de duas diluições independentes de cada bactéria a cada LoD estimado.

O LoD pretendido para cada par de organismos produtores de carbapenemases nas matrizes de zaragatoas retais e peri-retais é indicado na Tabela 15 e na Tabela 16.

**Tabela 15. Estimativas e verificação do LoD para organismos portadores de genes para carbapenemases utilizando o ensaio Xpert Carba-R numa matriz de zaragatoa retal**

Gene-alvo e organismo	Estimativas do LoD (Probit) UFC/zaragatoa		LoD pretendido UFC/zaragatoa	LoD estimado no reagente de amostra (UFC/ml)	Verificação (positivos/20)
	Lote 1	Lote 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	174	141	174	35	20/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	303	306	306	61	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	247	305	305	61	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	815	468	815	163	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	117	251	251	50	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	74	57	74	15	19/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	373	292	373	75	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	779	537	779	156	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	154	109	154	31	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	104	99	104	21	20/20

**Tabela 16. Estimativas e verificação do LoD para organismos portadores de genes para carbapenemases utilizando o ensaio Xpert Carba-R numa matriz de zaragatoas peri-retais**

Gene-alvo e organismo	Estimativas do LoD (Probit) UFC/zaragatoa		LoD pretendido UFC/zaragatoa	LoD estimado no reagente de amostra (UFC/ml)	Verificação (positivos/20)
	Lote 1	Lote 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	90	118	118	24	19/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	269	635	635	127	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	901	514	901	180	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	446	403	446	89	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	133	113	133	27	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	56	54	56	11	20/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	358	292	358	72	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	1259	1303	1303	261	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	223	166	223	45	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	126	137	137	27	20/20

## 18.2 Reatividade analítica (Inclusividade)

### 18.2.1 Estudo das matrizes de zangatoas retais e peri-retais

A reatividade analítica do ensaio Xpert Carba-R com as matrizes de zangatoas retais e peri-retais foi avaliada testando um painel de 72 amostras. Este painel consistia das seguintes estirpes bacterianas bem caracterizadas: 11 *bla*<sub>KPC</sub> (KPC), 11 *bla*<sub>VIM</sub> (VIM), 8 *bla*<sub>OXA-48</sub> (OXA-48), 5 *bla*<sub>NDM</sub>/*bla*<sub>OXA-181</sub> (NDM/OXA-181), 6 *bla*<sub>OXA-181</sub> (OXA-181), 17 *bla*<sub>IMP</sub> (IMP) e uma *bla*<sub>KPC</sub>/*bla*<sub>VIM</sub> (KPC/VIM). As estirpes testadas nas matrizes de zangatoas retais e peri-retais e as suas concentrações de teste são apresentadas na Tabela 17.

Para os testes em matrizes de zangatoas retais e peri-retais, os organismos foram semeados numa matriz de zangatoas retais negativas agrupadas ou numa matriz de zangatoas peri-retais negativas agrupadas. Todas as estirpes bacterianas foram testadas em triplicado para ambas as matrizes de zangatoas. Os genes-alvo do ensaio Xpert Carba-R foram detetados em 69 das 72 estirpes bacterianas produtoras de carbapenemases, embora o IMP-4 tenha sido detetado apenas com uma concentração superior (Tabela 17). As sequências-alvo do ADN do ensaio Xpert Carba-R não foram detetadas em três estirpes bacterianas, conforme mostrado na Tabela 17. Em uma das três estirpes bacterianas, o gene IMP-13 não foi detetado pelo ensaio, embora tivesse sido previsto pela análise *in silico* que seria detetado. Em duas das outras três estirpes bacterianas, os genes IMP-7 e IMP-14 não foram detetados pelo ensaio e também não tinha sido previsto pela análise *in silico* que seriam detetados. Consulte Secção 15, Limitações no folheto informativo.

**Tabela 17. Reatividade analítica do ensaio Xpert Carba-R em matrizes de zangatoa retal e peri-retal**

ID da estirpe	Organismo	Marcador de resistência com informação da variante	Concentração testada nas matrizes de zangatoas retais e peri-retais (UFC/ml)
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	153
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4	50
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	130
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2	250
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2	250
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	330
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	100
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2	300
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2	160
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2	147
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM	80
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC	70
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10	500
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	130
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	70
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	250
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM	200
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	2000
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2	500
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2	250

Tabela 17. Reatividade analítica do ensaio Xpert Carba-R em matrizes de zaragatoa retal e peri-retal (Continuação)

ID da estirpe	Organismo	Marcador de resistência com informação da variante	Concentração testada nas matrizes de zaragatoas retais e peri-retais (UFC/ml)
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4	250
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19	250
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM	500
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM	80
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1	130
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1	70
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1	30
CAN	<i>Salmonella spp.</i>	NDM-1	70
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2	40
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4	30
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5	30
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM	30
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM	50
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1	70
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	40
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	60
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	120
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	80
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	120
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	100
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	280
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
CDC0051	<i>Klebsiella ozaenae</i> <sup>a</sup>	OXA-181	250
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	10
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181	10
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	60
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	15

**Tabela 17. Reatividade analítica do ensaio Xpert Carba-R em matrizes de zaragatoa retal e peri-retal (Continuação)**

ID da estirpe	Organismo	Marcador de resistência com informação da variante	Concentração testada nas matrizes de zaragatoas retais e peri-retais (UFC/ml)
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	20
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1	250
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1720
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1	250
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1000
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	500
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	500
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	250
3994	<i>Pseudomonas spp.</i>	IMP-10	250
CDC0161	<i>Enterobacter aerogenes</i> <sup>a</sup>	IMP-4	5,00E+04
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2	60
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11	2000
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6	80
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 <sup>b,c</sup>	1,00E+06
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 <sup>c</sup>	1,00E+06
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 <sup>b,c</sup>	1,00E+06

- a. Estes organismos não foram testados como isolados bacterianos.
- b. Os genes IMP-7 e IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) não foram detetados pelo ensaio e também não tinha sido previsto pela análise *in silico* que seriam detetados (consulte a Secção 15, Limitações).
- c. IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*): embora tivesse sido previsto pela análise *in silico* que seria detetado, o gene IMP-13 não foi detetado pelo ensaio (consulte a Secção 15, Limitações).

### 18.2.2 Estudo de isolados bacterianos

A sensibilidade analítica do ensaio Xpert Carba-R com isolados bacterianos foi também avaliada testando um painel de 71 amostras consistindo nas seguintes estirpes bacterianas bem caracterizadas: 11 *bla*<sub>KPC</sub> (KPC), 13 *bla*<sub>NDM</sub> (NDM), 11 *bla*<sub>VIM</sub> (VIM), 8 *bla*<sub>OXA-48</sub> (OXA-48), 5 *bla*<sub>NDM/bla</sub><sub>OXA-181</sub> (NDM/OXA-181), 5 *bla*<sub>OXA-181</sub> (OXA-181), 17 *bla*<sub>IMP</sub> (IMP) e uma *bla*<sub>KPC/bla</sub><sub>VIM</sub> (KPC/VIM). As estirpes testadas como isolados bacterianos são apresentadas na Tabela 18.

Para os testes de isolados bacterianos, os organismos foram testados em replicados de quatro que foram preparados através da diluição de 10 µl de suspensão celular de McFarland 0,5 para cada estirpe bacteriana em 5 ml de reagente de amostra. Os testes foram realizados utilizando tanto placas de ágar sangue como de ágar MacConkey. Os genes-alvo do ensaio Xpert Carba-R foram detetados em 68 de 71 estirpes bacterianas de ambas as placas. As sequências-alvo do ADN do ensaio Xpert Carba-R não foram detetadas em três estirpes bacterianas, conforme mostrado na nota de rodapé da Tabela 18.

Em uma das três estirpes bacterianas, o gene IMP-13 não foi detetado pelo ensaio, embora tivesse sido previsto pela análise *in silico* que seria detetado. Em duas das três estirpes bacterianas, os genes IMP-7 e IMP-14 que não foram detetados pelo ensaio e também não tinha sido previsto, pela análise *in silico*, que seriam detetados. Consulte a Secção Limitações, no folheto informativo.

**Tabela 18. Reatividade analítica do ensaio Xpert Carba-R - Isolados bacterianos**

ID da estirpe	Organismo	Marcador de resistência com informação da variante
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM

Tabela 18. Reatividade analítica do ensaio Xpert Carba-R - Isolados bacterianos (Continuação)

ID da estirpe	Organismo	Marcador de resistência com informação da variante
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1
CAN	<i>Salmonella spp.</i>	NDM-1
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1, OXA-181
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1
3994	<i>Pseudomonas spp.</i>	IMP-10
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1

Tabela 18. Reatividade analítica do ensaio Xpert Carba-R - Isolados bacterianos (Continuação)

ID da estirpe	Organismo	Marcador de resistência com informação da variante
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2
G029	<i>Salmonella spp.</i>	IMP-4
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 <sup>a,b</sup>
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 <sup>a</sup>
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 <sup>a,b</sup>

- a. Não detetado pelo Xpert Carba-R (ver Secção 15, Limitações).  
b. Os genes IMP-7 e IMP-14 não foram detetados pelo ensaio e não tinha sido previsto pela análise *in silico* que seriam detetados (consulte a Secção 15, Limitações).

As variantes detetadas e as previsões para a deteção de outros subtipos de cada gene de resistência baseadas na análise *in silico* são apresentadas na Tabela 19 (representando resultados do estudo de matriz de zaragatoa retal e de isolados bacterianos).

Tabela 19. Resumo das variantes detetadas através de testes em meios húmidos ou com deteção prevista segundo a análise *in silico*

Marcador (ou subgrupo tradicional)	Testes em meios húmidos			Não testado mas com deteção prevista segundo a análise <i>in silico</i>
	N.º de amostras	Tipo(s) detetado(s)	Tipo(s) não detetado(s)	
KPC	12	KPC-2,3,4	--	KPC-5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
NDM	18	NDM-1,2,4,5	--	NDM-3, 6, 7, 8, 9
VIM	12	VIM-1,2,4,10,19	--	VIM-5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38
OXA-48	18	OXA-48, 181 (variante de OXA-48)	--	OXA-162, 163, 204, 232, 244, 245, 247
IMP	17	IMP-1 (9 estirpes), IMP-2, 4, 6, 10, 11	IMP-7 <sup>a</sup> , 13 <sup>b</sup> , 14 <sup>a</sup>	IMP-3, 8, 9, 13 <sup>b</sup> , 19, 20, 21, 22, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 33, 37, 40, 42

- a. Os genes IMP-7 e IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) não foram detetados pelo ensaio e também não tinha sido previsto pela análise *in silico* que seriam detetados (consulte a Secção 15, Limitações).  
b. IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*) foi testado: embora tivesse sido previsto pela análise *in silico* que seria detetado, o gene IMP-13 não foi detetado pelo ensaio (consulte a Secção 15, Limitações).



### 18.3 Especificidade analítica (reatividade cruzada)

A especificidade analítica do ensaio Xpert Carba-R foi avaliada para isolados bacterianos, organismos semeados em matriz de zaragoas retais e organismos semeados em matriz de zaragoas peri-retais. Para os três tipos de amostra, foi avaliado um painel de 62 estirpes bacterianas bem caracterizadas suscetíveis a carbapenemos ou bactérias não suscetíveis aos carbapenemos devido a genes ou mecanismos diferentes dos genes-alvo do Xpert Carba-R (Tabela 20 e Tabela 21) e 24 estirpes bacterianas comensais e outros microrganismos entéricos também foram avaliados no estudo (Tabela 22). Também foram testadas células humanas nas matrizes de zaragoas retais e peri-retais (Tabela 23). Os mecanismos de resistência foram determinados por ensaios de PCR individuais, análise de sequenciação de ADN ou Check-Points array, versão CT102.

Para as amostras de matriz de zaragoa retal e de matriz de zaragoa peri-retal, 62 estirpes foram testadas a concentrações  $> 1 \times 10^6$  UFC/ml, excetuando o *Peptostreptococcus anaerobius* que foi testado a  $5 \times 10^5$  UFC/ml. Os vírus foram testados a  $> 1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml ou superior a  $2,5 \times 10^7$  cópias de ARN/ml. Uma linha celular da bexiga (ADN genómico humano) foi testada a  $1 \times 10^5$  células/ml. Os organismos foram diluídos na matriz de zaragoas retais negativas agrupadas ou na matriz de zaragoas peri-retais negativas agrupadas e testados em triplicado. Nenhum dos 94 organismos potencialmente com reatividade cruzada e ácidos nucleicos testados foram detetados com o ensaio Xpert Carba-R.

Para os isolados bacterianos, os organismos foram cultivados aerobicamente em placas de ágar sangue e ágar MacConkey. Foram preparadas duas suspensões celulares equivalentes a uma suspensão celular de McFarland 0,5 a partir de colónias isoladas em cada tipo de placa de ágar. Cada organismo foi testado quatro vezes no total (duas réplicas de cada uma de duas suspensões celulares de McFarland 0,5 por organismo) a partir de cada placa.

O ensaio Xpert Carba-R não apresentou reatividade cruzada com nenhum dos organismos testados (Tabela 20, Tabela 21, Tabela 22 e Tabela 23). A especificidade analítica do ensaio foi de 100%.

**Tabela 20. Número de organismos suscetíveis e não suscetíveis a carbapenemos para cada antibiótico**

	Ertapenemo	Imipenemo	Meropenemo
<b>Suscetível</b>	19	30	24
<b>Intermédio</b>	0	8	4
<b>Resistente</b>	43	24	34

**Tabela 21. Painel de reatividade cruzada**

Organismo	ID da estirpe	Mecanismos de resistência confirmados	Suscetibilidade a carbapenemos (S/I/R) <sup>a</sup>		
			ETP <sup>a</sup>	IMP <sup>a</sup>	MEM <sup>a</sup>
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 13441	CTX-M (-1, semelhante a tipo 15); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13465	CTX-M (25)	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	810	Deficiência de OmpC/OmpF; TEM	R	R	R
<i>Citrobacter freundii</i>	1698	TEM (WT+164S)	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	5557	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn5	CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn12	TEM; SHV; CTX-M	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco1	TEM; CTX-M-2	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco2	CTX-M (2); TEM; OXA-2	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	cor1	CTX-M (2); TEM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	hpp21	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Morganella morganii</i>	fer29	CTX-M (2); TEM	S	R	S
<i>Proteus mirabilis</i>	gut25	CTX-M (2); TEM	S	R	S
<i>Salmonella spp.</i>	3209	CTX-M (2); TEM	S	S	S

Tabela 21. Painel de reatividade cruzada (Continuação)

Organismo	ID da estirpe	Mecanismos de resistência confirmados	Suscetibilidade a carbapenemos (S/I/R) <sup>a</sup>		
			ETP <sup>a</sup>	IMP <sup>a</sup>	MEM <sup>a</sup>
<i>Shigella flexnerii</i>	3331	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_3	AmpC; CTX-M-15; TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32189	SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32443	CTX-M (1, semelhante a tipo 15); SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32598	CTX-M (-1, semelhante a tipo 15); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33560	CTX-M (15); SHV-11; TEM-1	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33603	SHV-2	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33617	SHV-27	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33643	SHV (-5, -55); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34430	SHV; TEM; CTX-M-15	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34680	TEM; CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34732	CTX-M (15); SHV; TEM	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_174	GX-/Cultura+; SHV; TEM	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 645	SHV (WT+238S+240K)	R	S	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 669	SHV (WT+238S+240K)	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	C3015	AmpC (CMY II); TEM	R	R	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	RI_100	AmpC (DHA); SHV	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B4A	SHV (WT + 238S +240K)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B13A	SHV (WT + 238S +240K)	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	RI_474	AmpC (ACT/MIR)	R	I	I
<i>Enterobacter amnigenus</i>	B71	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DD82A	SHV (WT + 238S + 240K)	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B100	CTX-M (-1, semelhante a tipo 15); SHV (WT+238S); TEM	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	135B	TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B157	SHV; TEM	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	T2914280	CTX-M (-1, -15); TEM	R	S	R
<i>Providencia stuartii</i>	DD188	TEM (104K + 164S)	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	DD189	AmpC (ACT/MIR)	R	S	S
<i>Escherichia coli</i>	B198B	CTX-M (-1, semelhante a tipo 15); TEM	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-1	CTX-M (-1, semelhante a tipo 15); SHV	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-2	CTX-M (-1, semelhante a tipo 15); SHV	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	ENC-THAI14	VEB-1, TEM	S	S	S

Tabela 21. Painel de reatividade cruzada (Continuação)

Organismo	ID da estirpe	Mecanismos de resistência confirmados	Suscetibilidade a carbapenemos (S/I/R) <sup>a</sup>		
			ETP <sup>a</sup>	IMP <sup>a</sup>	MEM <sup>a</sup>
<i>Escherichia coli</i>	CB154006	CTX-M (9); TEM	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	S35766	AmpC (ACT/MIR)	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	X1856910	AmpC (ACT/MIR); TEM	R	I	I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3758164	CTX-M (-1, semelhante a tipo 15); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	X2135758	CTX-M (-1, semelhante a tipo 15); SHV	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3809535	CTX-M (-1, semelhante a tipo 15); SHV	R	R	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CDC0064	SPM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0099	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0121	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0122	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0123	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0124	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0130	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0131	SME	R	R	R
Grupo <i>Enterobacter cloacae</i>	CDC0132	IMI	R	R	R
Complexo <i>Enterobacter cloacae</i>	CDC0164	IMI	R	R	R

a. S/I/R = Suscetível/Intermédio/Resistente, ETP = Ertapenemo, IMP = Imipenemo, MEM = Meropenemo

Tabela 22. Painel de reatividade cruzada (comensais e outros microrganismos entéricos)

ID da estirpe	Organismo	Concentração testada (UFC/ml, salvo especificação em contrário)
ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>	2,67E+06
ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	3,15E+06
ATCC 700603	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,20E+06
ATCC 35218	<i>Escherichia coli</i>	2,47E+06
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,53E+06
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,17E+06
ATCC 9689	<i>Clostridium difficile</i> <sup>a</sup>	1,80E+07
ATCC 700621	<i>Enterobacter cloacae</i>	8,95E+06
ATCC 9756	<i>Enterococcus faecium</i>	6,54E+06
ATCC 13182	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4,76E+06
ATCC BAA-747	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2,27E+06
ATCC 33128	<i>Citrobacter freundii</i>	2,01E+06

Tabela 22. Painel de reatividade cruzada (comensais e outros microrganismos entéricos) (Continuação)

ID da estirpe	Organismo	Concentração testada (UFC/ml, salvo especificação em contrário)
ATCC 49948	<i>Morganella morganii</i>	8,19E+06
ATCC 51331	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3,15E+06
ATCC 27028	<i>Citrobacter koseri</i>	5,05E+06
ATCC 49809	<i>Providencia stuartii</i>	3,01E+06
ATCC 49037	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> <sup>a</sup>	5,00E+05
CCUG 29780 / ATCC 12401	<i>Streptococcus agalactiae</i>	5,21E+06
ATCC 15703	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> <sup>a</sup>	1,10E+08
ATCC 51697	<i>Enterobacter aerogenes</i>	3,19E+06
ATCC 43071	<i>Proteus mirabilis</i>	1,78E+06
CCUG 34787	<i>Acinetobacter spp.</i>	2,40E+06
CCUG 418	<i>Citrobacter freundii</i>	2,95E+06
CCUG 33629	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	4,48E+06
CCUG 17874	<i>Helicobacter pylori</i>	1,61E+06
CCUG 33548	<i>Listeria monocytogenes</i>	4,77E+06
CCUG 6325	<i>Providencia alcalifaciens</i>	4,91E+06
CCUG 43594 / ATCC 33560	<i>Campylobacter jejuni</i> <sup>a</sup>	3,27E+06
MRVP/ZeptoMetrix	Adenovírus B tipo 7A/NY <sup>a</sup>	1,40E+05 TCID <sub>50</sub> /ml
MRVP/ZeptoMetrix	Enterovírus tipo 71/NY <sup>a</sup>	4,40E+05 TCID <sub>50</sub> /ml
Amostra clínica — Cepheid	Norovírus GI <sup>a</sup>	2,5 x 10 <sup>7</sup> cópias de ARN/ml

a. Estes organismos foram testados em matrizes de zaragatoas retais e de zaragatoas peri-retais.

Tabela 23. Linha celular que representa o ADN genómico humano

Nome do organismo	Fonte
Carcinoma celular da bexiga (hgDNA)	ATCC HTB-4

#### 18.4 Interferência competitiva

Foi efetuado um estudo de interferência competitiva para testar se um título elevado de um ou mais organismos produtores de carbapenemases poderia interferir com a detecção de um segundo organismo-alvo produtor de carbapenemase que estivesse presente com um título baixo. Foram formuladas amostras de elevado título para concentrações de  $5 \times 10^6$  UFC/zaragatoa e foram formulados alvos de baixo título para cerca de 2x LoD para a respetiva estirpe na matriz de zaragatoas retais ou de matriz de zaragatoas peri-retais. Neste estudo foi utilizada uma estirpe bacteriana produtora de carbapenemases para cada analito do gene, ou seja, os genes que codificam KPC, NDM, VIM, OXA-48 e IMP. Cada tipo de estirpe bacteriana produtora de carbapenemases foi testada para títulos baixos em conjunto com um título elevado dos outros, um ou dois, tipos de estirpe bacteriana produtora de carbapenemases (Tabela 24). As amostras foram testadas em replicados de oito.

Foi observado um efeito inibidor para três dos cinco alvos (IMP, VIM e OXA-48) quando estava presente uma concentração baixa de cada alvo em associação com uma concentração elevada de um ou dois outros alvos para as amostras testadas na matriz de zaragatoa retal. Os três alvos (IMP, VIM e OXA-48) foram testados com uma concentração mais elevada (4x LoD) em associação com uma concentração elevada de um ou dois outros alvos para as amostras testadas na matriz de zaragatoa retal. Não foi observado efeito inibidor para os três alvos (IMP, VIM e OXA-48) a 4x LoD na presença de coinfeções clinicamente relevantes para o ensaio Xpert Carba-R.

Foi observado um efeito inibidor para dois dos cinco alvos (NDM e IMP) quando estava presente uma concentração baixa de cada alvo em associação com uma concentração elevada de um ou dois dos outros alvos para as amostras testadas na matriz de zaragatoas peri-retais. Os dois alvos (NDM e IMP) foram testados com uma concentração mais elevada (4x LoD) em associação com uma concentração elevada de um ou dois dos outros alvos para as amostras testadas na matriz de zaragatoas peri-retais. Não foi observado efeito inibidor para os dois alvos (NDM e IMP) a 4x LoD na presença de coinfeções clinicamente relevantes para o ensaio Xpert Carba-R.

O efeito inibidor competitivo nos alvos do Carba-R (NDM, IMP, VIM e OXA-48) é discutido na Secção 15, Limitações do folheto informativo.

**Tabela 24. Associações de bactérias produtoras de carbapenemases testadas com o ensaio Xpert Carba-R**

Combinação
KPC alto/NDM alto/VIM baixo
KPC alto/NDM alto/OXA baixo
KPC alto/NDM alto/IMP baixo
VIM alto/OXA alto/KPC baixo
VIM alto/OXA alto/NDM baixo
VIM alto/OXA alto/IMP baixo
IMP alto/KPC baixo
IMP alto/NDM baixo
IMP alto/VIM baixo
IMP alto/OXA baixo
OXA alto/VIM baixo
VIM alto/OXA baixo
KPC alto/NDM baixo
Negativo

### 18.5 Substâncias potencialmente interferentes

O desempenho do ensaio Xpert Carba-R foi avaliado com 24 substâncias potencialmente interferentes que podem estar presentes em amostras de zaragatoa retal e peri-retal. Foram preparadas e testadas soluções de substâncias potencialmente interferentes (SI) às concentrações indicadas na Tabela 25. Incluíram-se no estudo amostras positivas e negativas. As amostras positivas consistiam de uma mistura de cinco organismos produtores de carbapenemases portadores das sequências genéticas KPC, NDM, VIM, IMP-1 e OXA-48 semeados em matriz de zaragatoas retais negativas agrupadas ou em matriz de zaragatoas peri-retais negativas agrupadas a aproximadamente 3x LoD. Foram testados oito replicados de amostras positivas por substância. As amostras negativas consistiam em matriz de zaragatoas retais negativas agrupadas ou em matriz de zaragatoas peri-retais negativas agrupadas não semeada com organismos produtores de carbapenemases. Foram testadas oito amostras negativas de réplicas por substância para determinar o efeito sobre o desempenho do controlo de processamento da amostra (SPC). Os controlos consistiam em amostras positivas e negativas sem a adição de substâncias interferentes. O efeito de cada substância potencialmente interferente em replicados positivos e negativos foi avaliado comparando os valores limite do ciclo (Ct) alvo gerados na presença da substância com valores Ct dos controlos a que faltava a substância. As amostras de replicados positivos e negativos para 22 substâncias potencialmente interferentes foram corretamente identificadas pelo ensaio Xpert Carba-R. Podem ser observadas interferências com o ensaio Xpert Carba-R com sulfato de bário > 0,1% p/v e Pepto-Bismol > 0,01% p/v em testes com amostras de matriz de zaragatoa retal. Consulte Secção 15, Limitações no folheto informativo. Amostras de matriz de zaragatoa retal, positivas para uma mistura de cinco organismos produtores de carbapenemases portadores das sequências genéticas KPC, NDM, VIM, IMP-1 e OXA-48 que foram testadas com gordura fecal a 0,25% p/v, não deram resultados falsos negativos, contudo, foram observados valores limite do ciclo retardados para o alvo VIM. Esta potencial interferência da presença de gordura fecal a 0,25% p/v é fornecida na secção Limitações do folheto informativo. Podem ser observadas interferências com o ensaio Xpert Carba-R com sulfato de bário > 0,1% p/v e Pepto-Bismol > 0,025% p/v em testes com amostras de matriz de zaragatoas peri-retais. Consulte a Secção 15, Limitações.

**Tabela 25. Substâncias que podem interferir testadas**

Substância/Classe	Ingrediente ativo	Concentração testada
Medicação anti-inflamatória não esteroide	Naproxeno	0,25% p/v
Composto para imagiologia	Sulfato de bário	0,25% e 0,1% p/v
Antibiótico (oral)	Cefalexina	0,25% p/v
Antibiótico (oral)	Ciprofloxacina	0,25% p/v
Preservativo com lubrificante espermicida	Nonoxinol-9	1 preservativo <sup>a</sup>
Cremes/pomada/supositórios	Hidrocortisona	0,25% p/v
Laxante	Senosídeos	0,25% p/v
Lípidos	Ácido esteárico/ácido palmítico/colesterol (gordura fecal)	0,25% p/v
Antidiarreicos	Cloridrato de loperamida/subsalicilato de bismuto (Imodium)	0,25% p/v
Antidiarreicos	Cloridrato de loperamida/subsalicilato de bismuto (Kaopectate)	0,25% p/v
Creme tópico	K-Y Gel	0,25% p/v
Antiácidos	Carbonato de cálcio/hidróxido de alumínio/hidróxido de magnésio/simeticona (Leite de magnésia)	0,25% p/v
Clísteres	Óleo mineral	0,25% p/v
Antibiótico (tópico)	Polimixina B/ Neomicina/Bacitracina (Neosporin)	0,25% p/v

Tabela 25. Substâncias que podem interferir testadas (Continuação)

Substância/Classe	Ingrediente ativo	Concentração testada
Anti-fúngico/ anti-pruriginoso vaginal	Nistatina	0,25% p/v
Antiácido	Famotidina (Pepcid)	0,25% p/v
Antidiarreicos	Cloridrato de loperamida/subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol)	0,25%, 0,1%, 0,05%, 0,025%, 0,01% p/v
Creme tópico	Vaselina	0,25% p/v
Creμες/pomadas anti-hemorroidais	Fenilefrina (Preparação H)	0,25% p/v
Redutor de ácido; antiácido	Omeprazol (Prilosec)	0,25% p/v
Clisteres	Clistere salino	0,25% p/v
Antiácido	Cimetidina (Tagamet)	0,25% p/v
Antifúngico/anti-prurido Vaginal	Benzocaina, resorcinol (Vagisil)	0,25% p/v
Toalhetes húmidos	Cloreto de benzalcônio, etanol (Wet Ones)	1 unidade <sup>b</sup>

a. Um preservativo adicionado a 40 ml de matriz de zaragatoa.

b. Uma unidade (12,7 cm x 19,05 cm) adicionada a 40 ml de matriz de zaragatoa.

## 18.6 Estudo de contaminação por transferência

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência de amostras negativas executadas após amostras muito positivas. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert imediatamente após uma amostra muito positiva. A amostra muito positiva é constituída por células de *E. coli* inativadas contendo um plasmídeo com um oligonucleótido sintético inserido proveniente das sequências de amplificação dos cinco genes-alvo de analito do Xpert Carba-R (alvos KPC, NDM, VIM, IMP e OXA-48). As células positivas foram diluídas em matriz de zaragatoas retais negativas agrupadas e em matriz de zaragatoas peri-retais negativas agrupadas para uma concentração de  $1 \times 10^6$  UFC/ml. O esquema de teste foi repetido 25 vezes em dois módulos GeneXpert, totalizando 102 testes (25 amostras muito positivas por módulo e 26 amostras negativas por módulo) para a matriz de zaragatoas retais e a matriz de zaragatoas peri-retais. As 50 amostras positivas reportaram corretamente todos os alvos do Xpert Carba-R como **DETECTADO (DETECTED)** e as 52 amostras negativas reportaram corretamente todos os alvos do Xpert Carba-R como **NÃO DETECTADO (NOT DETECTED)** para cada tipo de matriz testado.

## 19 Reprodutibilidade

### 19.1 Estudo das matrizes de zaragatoas retais e peri-retais

A reprodutibilidade do ensaio Xpert Carba-R foi avaliada usando dois painéis de 11 amostras, um preparado em matriz de zaragatoas retais negativas agrupadas e o outro preparado em matriz de zaragatoas peri-retais negativas agrupadas. Dois operadores de cada um dos três centros do estudo testaram um painel de 11 amostras em replicados de quatro por dia ao longo de seis dias de teste (11 amostras x 2 replicados x 2 vezes/dia x 6 dias x 2 operadores x 3 centros). Foram utilizados três lotes de cartuchos do ensaio Xpert Carba-R em cada um dos três centros de teste. Realizou-se o ensaio Xpert Carba-R em conformidade com o procedimento do ensaio Xpert Carba-R. Os resultados são apresentados resumidamente na Tabela 26.

**Tabela 26. Resumo dos resultados da reprodutibilidade - % de concordância, matrizes de zaragoas retais e peri-retais**

Amostra	Matriz <sup>a</sup>	Centro 1			Centro 2			Centro 3			% de concordância total por amostra
		Op. 1	Op. 2	Centro	Op. 1	Op. 2	Centro	Op. 1	Op. 2	Centro	
Negat.	R	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)
IMP pos mod	R	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)
IMP pos baixo	R	91,7% (22/24)	87,5% (21/24)	89,5% (43/48)	83,3% (20/24)	87,5% (21/24)	85,4% (41/48)	87,5% (21/24)	79,2% (19/24)	83,3% (40/48)	86,1% (124/144)
VIM pos mod	R	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)
VIM pos baixo	R	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)
NDM pos mod	R	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)
NDM pos baixo	R	91,7% (22/24)	95,8% (23/24)	93,8% (45/48)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,8% (46/48)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	95,1% (137/144)
KPC pos mod	R	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)
KPC pos baixo	R	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,8% (46/48)	96,5% (139/144)
OXA-48 pos mod	R	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)
OXA-48 pos baixo	R	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	95,8% (46/48)	97,2% (140/144)
Negat.	PR	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)
IMP pos mod	PR	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)
IMP pos baixo	PR	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	93,8% (45/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	96,5% (139/144)
VIM pos mod	PR	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)
VIM pos baixo	PR	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	91,7% (44/48)	95,8% (23/24)	83,3% (20/24)	89,6% (43/48)	92,4% (133/144)
NDM pos mod	PR	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)
NDM pos baixo	PR	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	87,5% (21/24)	100% (24/24)	93,8% (45/48)	97,9% (141/144)
KPC pos mod	PR	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)
KPC pos baixo	PR	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	91,7% (44/48)	91,7% (22/24)	95,8% (23/24)	93,8% (45/48)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	93,8% (135/144)
OXA-48 pos mod	PR	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)
OXA-48 pos baixo	PR	87,5% (21/24)	87,5% (21/24)	87,5% (42/48)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,8% (46/48)	93,8% (135/144)

a. R = retal, PR = peri-retal



A reprodutibilidade do ensaio Xpert Carba-R também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct para cada alvo detetado. A média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) entre centros, entre lotes, entre dias, entre operadores e inter-ensaio para cada membro do painel são apresentados na Tabela 27.

**Tabela 27. Resumo dos resultados da reprodutibilidade, matrizes de zaragatoas retais e peri-retais**

Amostra	Matriz <sup>a</sup>	Canal de ensaio (analito)	N <sup>b</sup>	Ct médio	Entre centros		Entre lotes		Entre dias		Entre operadores		Intra-ensaio		Total	
					DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Negat.	R	SPC	144	32,9	0,2	0,5	0,2	0,7	0,0	0,1	0,0	0	0,6	1,8	0,7	2,0
IMP pos mod	R	IMP	144	34,5	0,0	0,0	0,2	0,5	0	0,0	0,1	0,2	0,7	2,0	0,7	2,1
IMP pos baixo	R	IMP	140	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,0	0	1,2	3,3	1,2	3,4
VIM pos mod	R	VIM	144	31,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,6	0,6	1,9
VIM pos baixo	R	VIM	144	33,8	0,0	0,0	0,6	1,8	0,3	0,9	0,3	1,0	1,4	4,0	1,6	4,6
NDM pos mod	R	NDM	144	33,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,6	1,7	0,6	1,7
NDM pos baixo	R	NDM	143	36,2	0,2	0,7	0,0	0,0	0,3	0,7	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,5
KPC pos mod	R	KPC	144	34,2	0,0	0,0	0,3	0,8	0,2	0,6	0,0	0,0	0,4	1,2	0,6	1,6
KPC pos baixo	R	KPC	141	35,8	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	0,3	0,9	0,7	1,9	0,9	2,6
OXA-48 pos mod	R	OXA-48	144	34,3	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,1	0,3	0,5	1,6	0,6	1,7
OXA-48 pos baixo	R	OXA-48	143	36,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,4
Negat.	PR	SPC	144	32,7	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
IMP pos mod	PR	IMP	144	33,7	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,5	1,6
IMP pos baixo	PR	IMP	142	36,0	0,2	0,5	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2	0,5	0,8	2,1	0,8	2,3
VIM pos mod	PR	VIM	144	31,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,0	0,1	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5
VIM pos baixo	PR	VIM	142	35,0	0,0	0,0	0,6	1,6	0,0	0,0	0,6	1,7	1,4	4,1	1,6	4,7
NDM pos mod	PR	NDM	144	33,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
NDM pos baixo	PR	NDM	143	35,7	0,2	0,5	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,9	2,4	0,9	2,5
KPC pos mod	PR	KPC	144	34,6	0,0	0,0	0,3	1,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,6	1,7
KPC pos baixo	PR	KPC	143	36,4	0,0	0,0	0,5	1,3	0,1	0,4	0,0	0,0	0,7	2,0	0,9	2,4
OXA-48 pos mod	PR	OXA-48	144	34,4	0,1	0,2	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,6	1,7
OXA-48 pos baixo	PR	OXA-48	144	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,2	0,0	0,0	1,0	2,7	1,1	2,9

a. R = retal, PR = peri-retal

b. Resultados com valores do Ct diferentes de zero em 144.

## 19.2 Estudo de isolados bacterianos

Avaliou-se a reprodutibilidade do ensaio Xpert Carba-R com um painel de 13 amostras bacterianas, incluindo: dois organismos diferentes por cada um dos cinco genes-alvo de resistência detetados pelo ensaio Xpert Carba-R; duas amostras de referência que incluíam dois genes-alvo; e uma amostra de referência negativa para os cinco genes-alvo. Dois operadores de cada um dos três centros do estudo testaram um painel de 13 amostras em replicados de quatro por dia. Cada amostra foi utilizada para fazer duas suspensões equivalentes a uma suspensão celular de McFarland 0,5 a partir das quais foram testados dois replicados ao longo de seis dias de teste (13 amostras x 2 replicados x 2 vezes/dia x 6 dias x 2 operadores x 3 centros). Foram utilizados três lotes de cartuchos do ensaio Xpert Carba-R em cada um dos três locais de teste. Realizou-se o ensaio Xpert Carba-R em conformidade com o procedimento do ensaio Xpert Carba-R. Após a conclusão dos testes, excluíram-se 25 testes realizados num módulo do instrumento, o que resultou na inclusão de um total de 1847 amostras nas análises. Os resultados são apresentados resumidamente na Tabela 28.

**Tabela 28. Resumo dos resultados da reprodutibilidade - % de concordância, isolados bacterianos**

Gene de resistência (N.º da amostra)	Centro 1			Centro 2			Centro 3			% de concordância total por amostra
	Op. 1	Op. 2	Centro	Op. 1	Op. 2	Centro	Op. 1	Op. 2	Centro	
KPC (1)	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)
KPC (2)	100% (23/23)	100% (22/22)	100% (45/45)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	99,3% (140/141)
VIM (1)	100% (22/22)	100% (23/23)	100% (45/45)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (141/141)
VIM (2)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (46/46)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (142/142)
IMP (1)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (47/47)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (143/143)
IMP (2)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (46/46)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (142/142)
OXA (1)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (46/46)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	98,6% (140/142)
OXA (2)	100% (23/23)	100% (22/22)	100% (45/45)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (141/141)
NDM (1)	100% (22/22)	100% (21/21)	100% (43/43)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (139/139)
NDM (2)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (46/46)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	95,8% (46/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	98,6% (140/142)
OXA,NDM (1)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (47/47)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (143/143)
OXA,NDM (2)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (47/47)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (143/143)
NEGAT. (NEG)	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)

A reprodutibilidade do ensaio Xpert Carba-R também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct para cada alvo detetado. A média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) entre centros, entre lotes, entre dias, entre operadores e intra-ensaio para cada membro do painel são apresentados na Tabela 29.

**Tabela 29. Resumo dos dados da reprodutibilidade - Isolados bacterianos**

Gene de resistência (N.º da amostra)	Canal de ensaio (analito)	N <sup>a</sup>	Entre centros		Entre lotes		Entre dias		Entre operadores		Intra-ensaio		Total	
			DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV
KPC (1)	KPC	144	1,1	4,4	0	0	0	0	0,6	2,6	0,6	2,6	1,4	5,8
KPC (2)	KPC	143	0,8	3,1	0,1	0,2	0,2	0,9	0,5	2,0	0,8	3,1	1,2	4,9
VIM (1)	VIM	141	1,1	5,1	0	0	0	0	0,5	2,3	0,8	3,7	1,5	6,7
VIM (2)	VIM	142	0,3	1,3	0,2	0,8	0	0	0,8	3,8	0,7	3,1	1,1	5,1
IMP (1)	IMP	143	0,3	1,0	0	0	0,3	1,2	0,6	2,3	0,8	3,1	1,0	4,2
IMP (2)	IMP	142	1,4	6,3	0,1	0,5	0	0	0,6	2,8	0,7	3,2	1,7	7,6
OXA (1)	OXA48	140	0,6	2,6	0	0	0	0	0,7	2,8	0,8	3,5	1,2	5,2
OXA (2)	OXA48	141	1,1	4,9	0,3	1,5	0	0	0,5	2,0	0,7	3,3	1,5	6,4
NDM (1)	NDM	139	1,2	5,3	0	0	0	0	0,6	2,4	0,7	3,1	1,5	6,6
NDM (2)	NDM	140	0,9	4,0	0,3	1,4	0	0	0,8	3,3	0,8	3,3	1,5	6,3
NDM/OXA (1)	NDM	143	1,3	5,4	0,2	0,8	0	0	0,6	2,5	0,7	3,1	1,6	6,8
	OXA48	143	1,2	6,2	0,3	1,4	0	0	0,5	2,4	0,7	3,7	1,5	7,7
NDM/OXA (2)	NDM	143	1,2	5,3	0,2	1,1	0	0	0,5	2,4	0,8	3,5	1,6	6,9
	OXA48	143	1,2	6,0	0,2	1,2	0	0	0,5	2,5	0,7	3,8	1,5	7,6
NEGAT. (NEG)	SPC	144	0,1	0,3	0,1	0,3	0	0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5

a. Resultados com valores do Ct diferentes de zero em 144.

## 20 Referências

1. Kallen AJ, et al. 2010. Current epidemiology of multidrug-resistant gram-negative bacilli in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 31 Suppl 1: S51–54.
2. Nordmann P, et al. 2012. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: a call for action! *Clin Microbiol Infect.* 18: 411–412.
3. Cornaglia G, et al. 2011. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis.* 11: 381–393.
4. Kitchel B, et al. 2009. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in the United States: Clonal expansion of MLST sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:3365–3370.
5. Schwaber MJ, et al. 2011. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis.* 52: 848–855.
6. Kumarasamy KK, et al. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 10: 597–602.
7. Cuzon G, et al. 2008. Plasmid-encoded carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase OXA-48 in an imipenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain from Belgium. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 3463–3464.
8. Nordmann P, et al. 2011. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* 17: 1791–1798.
9. Grundmann H, et al. 2010. Carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill.* 15:1-13.
10. van Duin D, et al. 2016. Ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam: second-generation  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations. *Clin Infect Dis.* 63(2):234-241.
11. Falcone M, Paterson D. 2016. Spotlight on ceftazidime/avibactam: a new option for MDR gram-negative infections. *J Antimicrob.* 71(10):2713-2722.
12. Navas, M and Jacobs M. 2016. Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* - A review for laboratorians. American Association for Clinical Chemistry (AACC) Clinical Laboratory News.
13. Vasoo S, et al. 2015. In vitro activities of ceftazidime-avibactam, aztreonam-avibactam, and a panel of older and contemporary antimicrobial agents against carbapenemase-producing gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(12:7842-7846).
14. Avycaz package insert. Section 14.2 Microbiology.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
16. Centers for Disease Control and Prevention. Accessed January 20, 2016. Healthcare-associated Infections (HAIs). <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-facilities.html>
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
18. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
19. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
20. CLSI M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA (refer to latest edition).
21. CLSI M07-A10. 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Tenth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
22. CLSI M100-S24. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
23. CLSI M07-A9. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Ninth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.

## 21 Locais das sedes da Cepheid

### Sede corporativa

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
Estados Unidos da América  
Telefone: + 1 408 541 4191  
Fax: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Sede europeia

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
França  
Telefone: + 33 563 825 300  
Fax: + 33 563 825 301  
www.cepheidinternational.com

## 22 Assistência Técnica

Antes de contactar a Assistência Técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

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



















### Informações de contacto

Estados Unidos da América  
Telefone: + 1 888 838 3222  
E-mail: techsupport@cepheid.com

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

As informações de contacto para outros escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: [www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

## 23 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Não reutilize
	Representante autorizado na União Europeia
	Mandatário na Suíça
	Importador
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Atenção
	Marca CE – Conformidade Europeia



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
EUA  
Telephone: + 1 408 541 4191  
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe S.A.S.  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
França  
Tel.: + 33 563 825 300  
Fax: + 33 563 825 301



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



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



