

# Xpert<sup>®</sup> MTB/RIF

**REF** GXMTB/RIF-10  
GXMTB/RIF-50

Copyright © Cepheid. Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid.

This product is licensed under US Patent No. 5,851,767 and corresponding claims of any non-US counterpart(s) thereof.

This product is sold under license from the Public Health Research Institute and may be used under PHRI patent rights only for human *in vitro* diagnostics.

NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL TO ANY OTHER PATENTS. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.



Cepheid AB  
Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna  
Sweden

# Xpert® MTB/RIF Assay

---

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

## NOME PROPRIETÁRIO

Xpert® MTB/RIF Assay

## NOME COMUM OU USUAL

Xpert MTB/RIF Assay

### A. APLICAÇÃO

O Xpert MTB/RIF Assay, destinado a ser utilizado com o sistema GeneXpert® da Cepheid, é um teste de diagnóstico *in vitro*, semi-quantitativo de “nested” PCR em tempo real, concebido para:

- detecção do ADN do complexo *Mycobacterium tuberculosis* em amostras de expectoração ou em sedimentos concentrados preparados a partir de expectorações induzidas ou expectoradas, positivas ou negativas para esfregaço de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR)
- e detecção de mutações do gene *rpoB*, associadas a resistência à rifampicina, em amostras de pacientes com risco de resistência à rifampicina

O Xpert MTB/RIF Assay destina-se a ser utilizado com amostras de pacientes não tratados, com suspeita clínica de tuberculose (TB). A utilização do Xpert MTB/RIF Assay para detecção de *M. tuberculosis* (MTB) ou para determinação da susceptibilidade à rifampicina não foi validada para pacientes a receber tratamento para a tuberculose.

### B. RESUMO E EXPLICAÇÃO

Globalmente, há cerca de 2 mil milhões de pessoas infectadas com MTB.<sup>1</sup> Todos os anos, quase 9 milhões de pessoas desenvolvem a doença activa e 2 milhões de pessoas morrem. A MTB activa, que é de natureza predominantemente pulmonar, é uma doença altamente contagiosa transmitida por via aérea. Dada a natureza infecciosa da MTB, o seu diagnóstico rápido e exacto é um elemento importante no tratamento e controlo da MTB.

O tratamento envolve a administração prolongada de múltiplos fármacos e é normalmente muitíssimo eficaz. Contudo, as estirpes de MTB podem adquirir resistência a um ou mais fármacos, tornando a cura muito mais difícil de alcançar. Os quatro fármacos de primeira linha habitualmente usados na terapia anti-tuberculose são:

- Isoniazida (INH)
- Rifampicina (RIF)
- Etambutol (EMB)
- Pirazinamida (PZA)

A resistência à RIF raramente ocorre isoladamente e normalmente indica resistência a alguns dos outros fármacos anti-tuberculose.<sup>2</sup> A resistência à rifampicina é observada com muita frequência em estirpes multirresistentes (TB-MR) e tem uma frequência documentada superior a 95% nesses isolados.<sup>3, 4, 5</sup> A tuberculose multirresistente (TB-MR) é definida como sendo uma doença causada por uma estirpe bacteriana resistente, pelo menos, à INH e à RIF. A resistência à RIF ou a outro fármaco de primeira linha normalmente é indicadora da necessidade de testes de susceptibilidade completos, incluindo o teste de agentes de segunda linha.

A detecção molecular da MTB e das mutações do gene *rpoB* associadas à resistência à rifampicina acelera o diagnóstico da tuberculose susceptível-ao fármaco e da TB-MR. Com o Xpert MTB/RIF Assay podem obter-se estes resultados em menos de 2,5 horas, usando amostras frescas de expectoração ou sedimentos preparados. A rápida detecção de MTB e da resistência à RIF permite ao médico tomar decisões críticas relativamente à terapia do paciente, durante uma única consulta.

### C. PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O sistema GeneXpert Dx integra e automatiza o processamento das amostras, a amplificação dos ácidos nucleicos e a detecção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR e transcriptase reversa-PCR em tempo real. O sistema é composto por um instrumento, um computador, um leitor de códigos de barras e software pré-instalado para efectuar testes em amostras colhidas e visualizar os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorre o processo de PCR. Como os cartuchos são autónomos, a contaminação cruzada entre amostras é eliminada. Para obter uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do Operador do Sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do Operador do Sistema GeneXpert Infinity*.

O Xpert MTB/RIF inclui reagentes para detecção de MTB e da resistência à RIF, assim como um controlo de processamento da amostra (SPC) para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e monitorizar a presença de inibidores da reacção de PCR. O controlo de verificação da sonda (PCC) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

Os primers do Xpert MTB/RIF Assay amplificam uma parte do gene *rpoB* que contém a região “core” com 81 pares de bases. As sondas têm a capacidade de diferenciar entre a sequência conservada do tipo selvagem e mutações na região core que estão associadas com a resistência à RIF.

## D. REAGENTES E INSTRUMENTOS

### D.1 MATERIAIS FORNECIDOS



O kit Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-10) contém reagentes suficientes para processar 10 amostras de doentes ou de controlo de qualidade e o kit Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-50) contém reagentes suficientes para processar 50 amostras de doentes ou de controlo de qualidade.

Os kits contêm os seguintes artigos:

CD	1 por kit	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> <li>Ficheiro de definição do ensaio (ADF — assay definition file)</li> <li>Instruções para importar o ADF para o software</li> <li>Folheto informativo</li> </ul>		
<b>Cartuchos do ensaio Xpert MTB/RIF com tubos de reacção integrados</b>	<b>10 por kit</b>	<b>50 por kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Esfera 1 (liofilizada)               <ul style="list-style-type: none"> <li>Primer</li> <li>Sondas</li> <li>KCl</li> <li>MgCl<sub>2</sub></li> <li>HEPES, pH 8,0</li> <li>BSA (albumina sérica bovina)</li> </ul> </li> </ul>	2 por cartucho	2 por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> <li>Esfera 2 (liofilizada)               <ul style="list-style-type: none"> <li>Sonda</li> <li>Polimerase</li> <li>KCl</li> <li>MgCl<sub>2</sub></li> <li>dNTPs</li> <li>HEPES, pH 7,2</li> <li>BSA</li> </ul> </li> </ul>	2 por cartucho	2 por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> <li>Esfera 3 (liofilizada)               <ul style="list-style-type: none"> <li>Aproximadamente 6000 esporos não infecciosos de controlo da preparação de amostras</li> </ul> </li> </ul>	1 por cartucho	1 por cartucho
<b>Reagente 1 (tampão Tris, EDTA e tensioactivos)</b>	<b>4 ml por cartucho</b>	<b>4 ml por cartucho</b>
<b>Reagente 2 (tampão Tris, EDTA e tensioactivos)</b>	<b>4 ml por cartucho</b>	<b>4 ml por cartucho</b>

<b>Reagente de amostra (hidróxido de sódio e isopropanol)</b>	<b>10 frascos de 8 ml</b>	<b>50 frascos de 8 ml</b>
<b>Pipetas de transferência descartáveis</b>	<b>12 por kit</b>	<b>60 por kit</b>

**Nota:** A solução do reagente de amostra é límpida, incolor a amarela dourada.

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

**Nota:** A albumina sérica bovina (BSA — bovine serum albumin) nas esferas presentes neste produto foi produzida a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. O fabrico da BSA também se processou nos 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 animais.

**Nota:** As pipetas de transferência têm uma única marca que representa o volume mínimo de amostra necessário a transferir para o cartucho GX. Utilize unicamente para este fim. Todas as outras pipetas têm de ser fornecidas pelo laboratório.

## D.2 CONSERVAÇÃO E MANUSEAMENTO





- Conserve os cartuchos e reagentes Xpert MTB/RIF entre 2 °C e 28 °C.
- Não utilize reagentes ou cartuchos fora do prazo da validade.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Inicie o teste nas 4 horas seguintes à adição da amostra ao cartucho.
- Após a abertura da embalagem, o cartuchos é estável até 2 semanas, entre 2 °C e 48 °C.

## E. MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Sistema GeneXpert Dx equipado com software GX4.0 ou superior (a referência varia com a configuração): Instrumento GeneXpert, computador, leitor de códigos de barras, e manual do operador
- Impressora (consulte o *Manual do Operador do Sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do Operador do Sistema GeneXpert Infinity* para obter orientações relativas à compatibilidade)
- Recipientes de colheita de amostras estanques, de tampa roscada, esterilizados
- Luvas descartáveis e protecção ocular
- Etiquetas ou caneta de marcação permanente
- Pipetas de transferência para o processamento das amostras

**F. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES**

- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Todas as amostras biológicas devem ser tratadas com precauções padrão. Estão disponíveis directrizes para o manuseamento de amostras junto dos Centers for Disease Control and Prevention<sup>6</sup> e do Clinical and Laboratory Standards Institute (anteriormente National Committee for Clinical Laboratory Standards) dos EUA.<sup>7</sup>
  - Use luvas descartáveis de protecção, bata e protecção ocular durante o manuseamento de amostras e reagentes. Lave muito bem as mãos após o manuseamento das amostras e dos reagentes do teste.
  - Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
  - O desempenho do Xpert MTB/RIF Assay na detecção do complexo MTB não foi demonstrado para amostras de origem não respiratória, como sangue, LCR, fezes ou urina. O desempenho do Xpert MTB/RIF Assay não foi avaliado com amostras processadas por outros métodos diferentes dos descritos neste folheto informativo.
  - Se tiver de processar mais do que uma amostra de cada vez, abra apenas um cartucho, adicione a amostra tratada com reagente de amostra (ou amostra liquefeita e descontaminada), e feche o cartucho antes de adicionar a amostra tratada com reagente de amostra ao cartucho seguinte.
  - Não abra a tampa do cartucho Xpert MTB/RIF, excepto para adicionar a amostra tratada.
  - Não utilize um cartucho que caiu ou que foi agitado depois de ter adicionado a amostra tratada.
  - Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
  - Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reacção danificado.
-  Cada cartucho Xpert MTB/RIF é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos processados.
- Consulte os regulamentos da sua região/país relativos à eliminação de resíduos perigosos e médicos. Se os regulamentos (ou a inexistência destes) não fornecerem indicações claras sobre uma eliminação adequada, as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, devem ser tratados como capazes de transmitir doenças infecciosas. Proceda à eliminação dos cartuchos usados como resíduos de saúde perigosos em recipientes para resíduos duradouros de acordo com as normas orientadoras relativas ao manuseamento e eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial de Saúde).
-  O Reagente de Amostra contém hidróxido de sódio (pH > 12,5) e isopropanol. Nocivo se engolido (H302), causa queimaduras graves na pele e lesões cutâneas (H314). Líquido e vapor (H225) altamente inflamáveis.

## G. COLHEITA E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS



Pode processar sedimentos ressuspensos ou expectoração recente com este ensaio. Consulte Tabela 1 para definir o volume adequado da amostra.

**Tabela 1.** Volume adequado da amostra

Tipo de amostra	Volume mínimo para um teste	Volume total mínimo para testar ou repetir o teste
Sedimento de expectoração	0,5 ml	1 ml
Expectoração recente	1 ml	2 ml

**Nota:** Para obter uma amostra adequada de expectoração recente, siga cuidadosamente as instruções desta secção. O paciente deve estar sentado ou em pé.

### G.1 CONSERVAÇÃO E MANUSEAMENTO

Sempre que possível, as amostras devem ser mantidas e transportadas entre 2 °C e 8 °C antes de serem processadas. Contudo, se necessário, as amostras podem ser conservadas a uma temperatura igual ou inferior a 35 °C durante ≤ 3 dias e entre 2 °C e 8 °C entre 4 a 10 dias.

### G.2 PROCEDIMENTO DE COLHEITA DE AMOSTRAS

1. Lave a boca do paciente duas vezes com água.
2. Abra a tampa do recipiente de colheita de expectoração.
3. Peça ao paciente para respirar fundo, tossir vigorosamente e expectorar o material para o recipiente. Evitar salpicar ou sujar o exterior do recipiente.
4. Fixe bem a tampa do dispositivo de colheita e, de seguida, envie o recipiente para a zona de processamento.

## H. PROCEDIMENTO(S) DE ENSAIO

### H.1 PROCEDIMENTO DE SEDIMENTOS DA EXPECTORAÇÃO

**Nota:** Rejeite amostras obviamente contaminadas com partículas alimentares ou outros sólidos.

*Requisitos de volume:* Os sedimentos de expectoração preparados de acordo com o método de Kent e Kubica<sup>8</sup> e ressuspensos em tampão de fosfato/H<sub>2</sub>O 67 mM podem ser testados com o Xpert MTB/RIF Assay. Depois da ressuspensão, reserve pelo menos 0,5 ml do sedimento ressuspensão para o Xpert MTB/RIF Assay.

1. Identifique cada cartucho Xpert MTB/RIF com a ID da amostra.

**Nota:** Escreva nos lados do cartucho ou afixe uma etiqueta de ID. Não coloque a etiqueta na tampa do cartucho nem tape o código de barras 2D que existe no cartucho.

2. Transfira pelo menos 0,5 ml do pellet total da ressuspensão para um tubo de fundo cónico e tampa roscada para o Xpert MTB/RIF, usando uma pipeta de transferência. Em alternativa, toda a amostra pode ser processada no tubo original.

**Nota:** Conserve os sedimentos ressuspensos entre 2 °C a 8 °C no caso de não serem imediatamente processados. Não conserve durante mais de 12 horas.



3. Adicione 1,5 ml de reagente de amostra (SR) Xpert MTB/RIF aos 0,5 ml de sedimento ressuspenso usando uma pipeta de transferência.
4. Agite vigorosamente 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.
 

**Nota:** Um movimento para a frente e para trás corresponde a uma única agitação.
5. Incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, e depois agite vigorosamente a amostra 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.
6. Incube a amostra à temperatura ambiente durante mais 5 minutos.

## H.2 PROCEDIMENTO DA AMOSTRA DE EXPECTORAÇÃO EXPECTORADA

**Nota:** Não aceite amostras obviamente contaminadas com partículas de alimentos ou de outros sólidos.

1. Identifique cada cartucho Xpert MTB/RIF com a ID da amostra.

**Nota:** Escreva nos lados do cartucho ou afixe uma etiqueta de ID. Não coloque a etiqueta na tampa do cartucho nem obstrua o código de barras 2D que existe no cartucho.



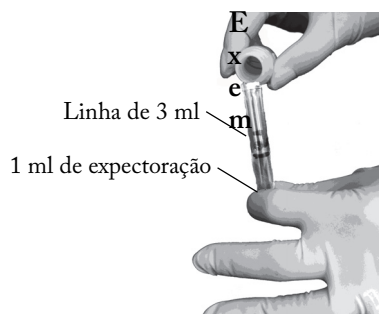
**Figura 1.** Escreva no cartucho com uma caneta de marcação permanente

2. Num recipiente de colheita de expectoração estanque:
  - A. Abra cuidadosamente a tampa do recipiente de colheita de expectoração.



**Figura 2.** Abra o recipiente da amostra

- B. Verta cerca de 2 vezes o volume do SR na expectoração (diluição 2:1, SR:expectoração).



**Figura 3.** Exemplos de diluições 2:1

- C. Recoloque e aperte bem a tampa.
- D. Agite vigorosamente 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.

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

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

### H.3 PREPARAÇÃO DO CARTUCHO

**Nota:** Inicie o teste nas 4 horas seguintes à adição da amostra ao cartucho.

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



**Figura 4.** Aspirar até à linha na pipeta

- 3. Transfira a amostra para a câmara da amostra do cartucho Xpert MTB/RIF. Distribua a amostra lentamente para minimizar o risco de formação de aerossóis. Consulte Figura 5.



**Figura 5.** Distribua a amostra liquefeita descontaminada na câmara da amostra do cartucho

- 4. Feche bem a tampa do cartucho.

**Importante:** Certifique-se de que insere o cartucho no instrumento GeneXpert Dx e inicia o teste nas 5 horas seguintes à preparação do cartucho.

#### H.4 INICIAR O TESTE

**Importante:** Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o sistema está equipado com o software GX4.0 ou superior e de que o ficheiro de definição do ensaio Xpert MTB/RIF foi importado para o software.

Esta secção enumera os passos predefinidos para utilizar o instrumento GeneXpert. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do operador do GeneXpert Dx System*.

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

1. Ligue o instrumento GeneXpert:
  - Se utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento GX Dx e, de seguida, ligue o computador. O software GeneXpert arranca automaticamente.

ou

  - Se utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, active o instrumento. No ambiente de trabalho do Windows®, faça duplo clique no ícone de atalho Software.
2. Inicie sessão no software do GeneXpert Dx System utilizando o seu nome de utilizador e senha.
3. Na janela GeneXpert Dx System, clique em **Create Test** (Criar teste). É apresentada a caixa de diálogo Scan Sample ID (Ler ID da amostra).
4. Na caixa **Sample ID** (ID da amostra), leia ou introduza a ID da amostra. Assegure-se de que digita a ID da amostra correcta. A ID da amostra está associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **View Results** (Ver resultados) e em todos os relatórios. É apresentada a caixa de diálogo Scan Cartridge Barcode (Ler código de barras do cartucho).
5. Leia o código de barras do cartucho Xpert MTB/RIF. Aparece a janela Create Test (Criar teste). Utilizando as informações do código de barras, o software vai preencher automaticamente as caixas dos campos seguintes: Select Assay (Seleccionar ensaio), Reagent Lot ID (ID do lote de reagente), Cartridge SN (N.º série do cartucho) e Expiration Date (Prazo de validade).
6. Faça clique em **Start Test** (Iniciar teste). Introduza a sua palavra-passe se lhe for solicitada.
7. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
8. Feche a porta. O teste inicia-se e a luz verde pára de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
9. Antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho, aguarde até o sistema desbloquear a porta no final da execução.

### H.5 ELIMINAR CARTUCHOS USADOS

1. Elimine os cartuchos num recipiente rígidos para detritos com risco biológico de acordo com as práticas padrão da sua instituição.



2. Não queime cartuchos usados.



3. Não elimine cartuchos usados num aterro ou lixeira.



### H.6 VISUALIZAÇÃO E IMPRESSÃO DE RESULTADOS

Para obter instruções pormenorizadas sobre como visualizar e imprimir os resultados, consulte o *Manual do Operador do Sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do Operador do Sistema GeneXpert Infinity* da Cepheid, dependendo do modelo que está a ser utilizado.

## I. CONTROLO DE QUALIDADE

### CONTROL

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (SPC) e um controlo de verificação da sonda (PCC).

**SPC:** Assegura que a amostra foi bem processada. O SPC contém esporos não infecciosos, sob a forma de um bolo de esporos secos que é incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado do MTB. O SPC verifica se ocorreu a lise do MTB se os organismos estiverem presentes e verifica se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo detecta a inibição associada à amostra do ensaio de PCR em tempo real.

O SPC deve ser positivo numa amostra negativa e pode ser negativo ou positivo numa amostra positiva. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados. O resultado do teste será “Inválido” se o SPC não for detectado num teste negativo.

**PCC:** Antes do início da reacção de PCR, o GeneXpert Dx System mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação das esferas, o enchimento do tubo de reacção, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O controlo de verificação da sonda é aprovado se preencher os critérios de aceitação atribuídos.

## J. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O sistema de instrumento GeneXpert produz os resultados a partir dos sinais fluorescentes medidos e de algoritmos de cálculo incorporados. Os resultados podem ser vistos na janela **View Results** (Ver resultados). Consulte nas Figuras 6, 7 e 8 exemplos específicos, e na Tabela 2 uma lista de todos os resultados possíveis.

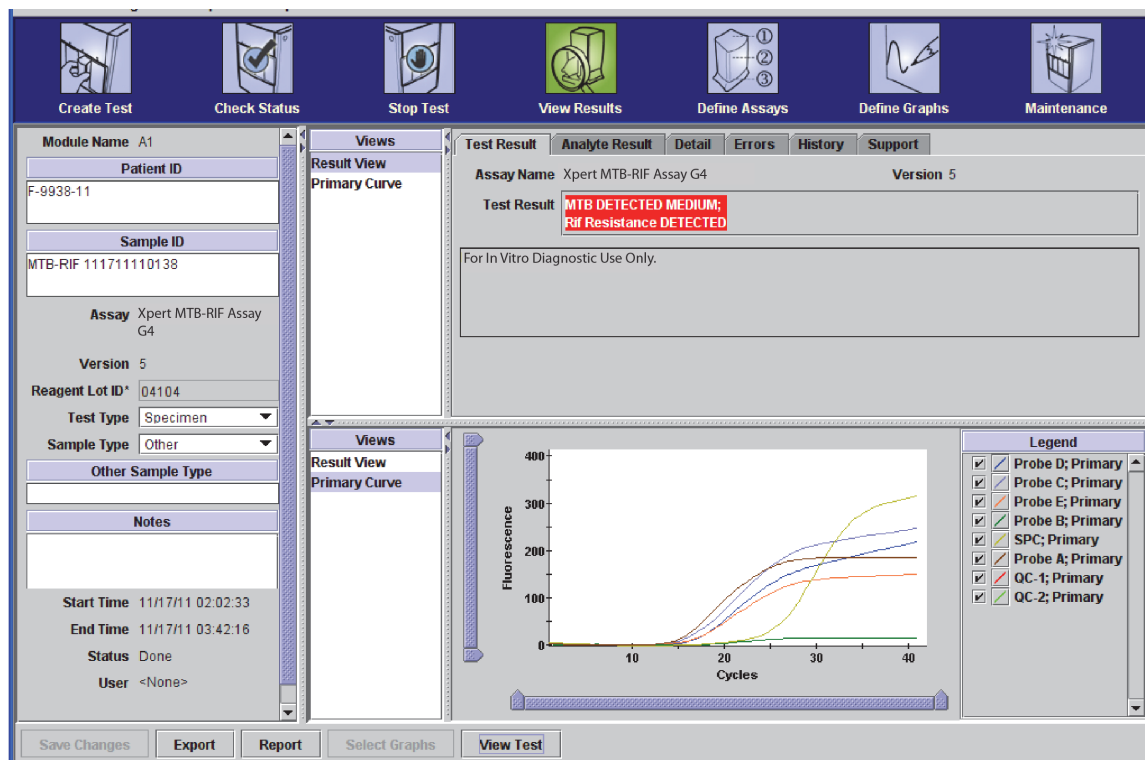


Figura 6. DETECTADA MTB MÉDIA; DETECTADA RESISTÊNCIA À RIF (vista de utilizador privilegiado)

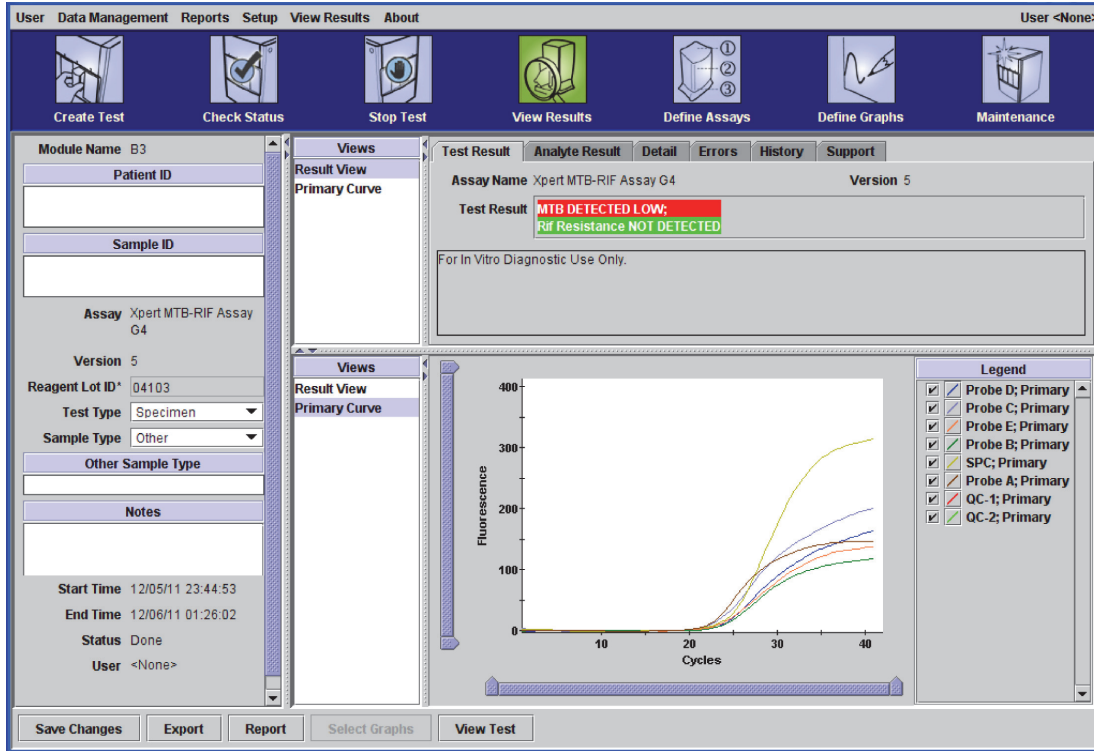


Figura 7. DETECTADA MTB MÉDIA; DETECTADA RESISTÊNCIA À RIF (vista de utilizador privilegiado)

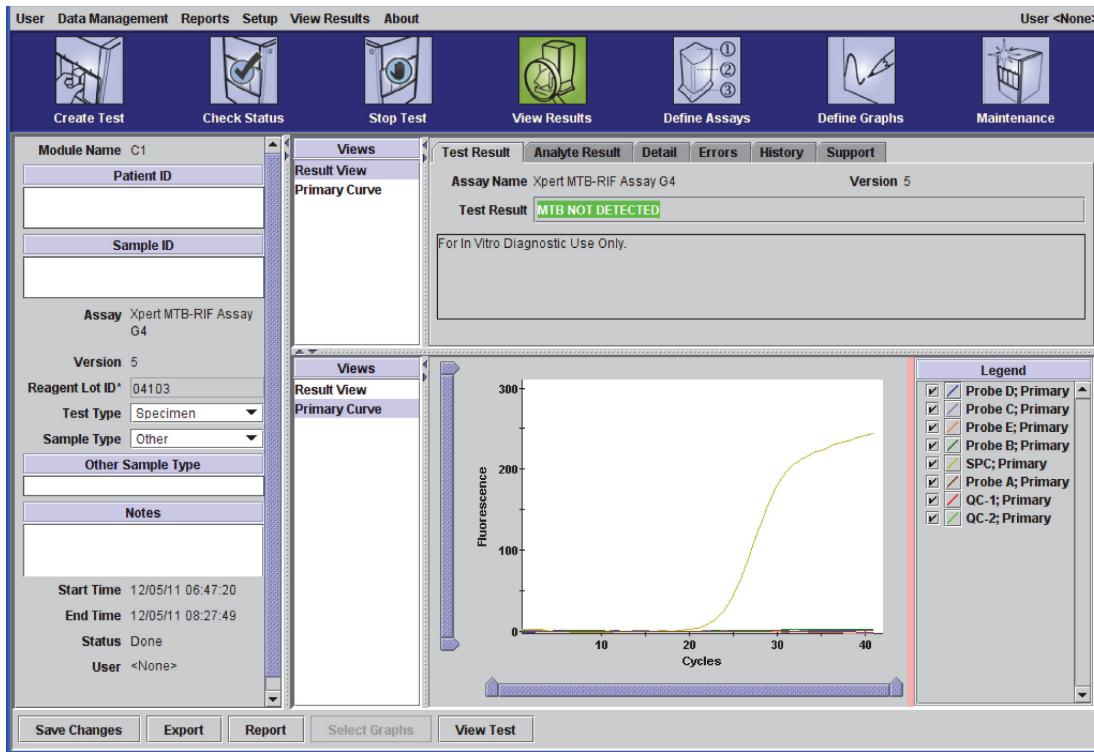


Figura 8. MTB NÃO DETECTADA (vista de utilizador privilegiado)

Tabela 2. Xpert MTB/RIF Assay Resultados e Interpretações

Resultado	Interpretação
<b>MTB DETECTED; Rif Resistance DETECTED (MTB DETECTADA; Resistência à RIF DETECTADA)</b>	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Foi detectada uma mutação no gene rpoB que está dentro do valor delta de Ct válido.</li> <li>SPC: NA (não aplicável). O sinal de SPC não é necessário na medida em que a amplificação do MTB pode competir com este controlo.</li> <li>Verificação da sonda: PASS (APROVADA). Aprovados todos os resultados de verificação da sonda.</li> </ul>
<b>MTB DETECTED; Rif Resistance NOT DETECTED (MTB DETECTADA; Resistência à RIF NÃO DETECTADA)</b>	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Não foi detectada qualquer mutação no gene rpoB.</li> <li>SPC: NA (não aplicável). O sinal de SPC não é necessário na medida em que a amplificação do MTB pode competir com este controlo.</li> <li>Verificação da sonda: PASS (APROVADA). Aprovados todos os resultados de verificação da sonda.</li> </ul>
<b>MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE (MTB DETECTADA; Resistência à Rif INDETERMINADA)</b>	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A resistência à RIF não pode ser determinada devido à insuficiente detecção do sinal.</li> <li>SPC: NA (não aplicável). O sinal de SPC não é necessário na medida em que a amplificação do MTB pode competir com este controlo.</li> <li>Verificação da sonda: PASS (APROVADA). Aprovados todos os resultados de verificação da sonda.</li> </ul>
<b>MTB Not Detected (MTB não detectado)</b>	<p>O alvo de MTB não é detectado dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>SPC: PASS (APROVADA). O SPC preenche os critérios de aceitação.</li> <li>Verificação da sonda: PASS (APROVADA). Aprovados todos os resultados de verificação da sonda.</li> </ul>
<b>INVALID (INVÁLIDO)</b>	<p>A presença ou ausência de MTB não pode ser determinada. O SPC não preenche os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou o PCR foi inibido. Repita o teste. Consulte a secção Procedimento de repetição do teste neste documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>MTB INVALID (INVÁLIDA): Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN do MTB.</li> <li>SPC: FAIL (NÃO APROVADA). O resultado do alvo do MTB é negativo e o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido.</li> <li>Verificação da sonda: PASS (APROVADA). Aprovados todos os resultados de verificação da sonda.</li> </ul>
<b>ERROR (ERRO)</b>	<p>A presença ou ausência de MTB não pode ser determinada. Repita o teste. Consulte a secção Procedimento de repetição do teste neste documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>MTB: NO RESULT (SEM RESULTADO)</li> <li>SPC: NO RESULT (SEM RESULTADO)</li> <li>Verificação da sonda: FAIL (NÃO APROVADA). Um ou mais resultados da verificação da sonda falharam.</li> </ul> <p>Nota: Se a verificação da sonda for aprovada, o erro é causado pela falha de um componente do sistema.</p>
<b>NO RESULT (SEM RESULTADO)</b>	<p>A presença ou ausência de MTB não pode ser determinada. Repita o teste. Consulte a secção Procedimento de repetição do teste neste documento. NO RESULT (SEM RESULTADO) indica que os dados recolhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava a decorrer.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>MTB: NO RESULT (SEM RESULTADO)</li> <li>SPC: NO RESULT (SEM RESULTADO)</li> <li>Verificação da sonda: NA (não aplicável)</li> </ul>

### **J.1** *MOTIVOS PARA REPETIR UM ENSAIO*

Repetir o teste usando um novo cartucho se ocorrer um dos seguintes resultados do teste:

- Um resultado INVALID (INVÁLIDO) indica que o SPC falhou. A amostra não foi processada correctamente ou o PCR foi inibido.
- Um resultado com ERROR (ERRO) indica que o controlo de verificação da sonda falhou e que o ensaio foi cancelado, possivelmente devido ao enchimento inadequado do tubo de reacção, à detecção de um problema de integridade da sonda de reagente, aos limites máximos da pressão terem sido excedidos ou por ter ocorrido uma falha num módulo do GeneXpert.
- NO RESULT (SEM RESULTADO) indica que os dados recolhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava a decorrer.

### **J.2** *PROCEDIMENTO DE REPETIÇÃO DO TESTE*

Se tiver expectoração recente remanescente ou sedimento reconstituído, use sempre SR novo para descontaminar e liquefazer a expectoração antes de efectuar o ensaio. Consulte “Procedimento(s) de ensaio” na página 6 ou “Procedimento da amostra de expectoração expectorada” na página 7.

Se tiver restado amostra tratada com SR em quantidade suficiente e tiverem decorrido menos de 5 horas sobre a adição inicial do SR à amostra, pode usar a amostra remanescente para preparar e processar um novo cartucho. Ao repetir o teste, use sempre um novo cartucho. Consulte “Preparação do cartucho” na página 8.

## **K. LIMITAÇÕES**

O desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF foi validado utilizando os procedimentos fornecidos neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste. Os resultados do ensaio Xpert MTB/RIF devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos à disposição do médico.

Como a detecção de MTB depende do número de organismos presentes na amostra, os resultados fidedignos dependem da correcta colheita, manuseamento e conservação da amostra. Podem ocorrer resultados de teste errados devido a colheita de amostra incorrecta, não efectuada de acordo com o procedimento recomendado para colheita, manuseamento e conservação da amostra, erro técnico, troca de amostras ou porque a concentração no material inicial era insuficiente. O cumprimento cuidadoso das instruções deste folheto é necessário para evitar resultados errados.

Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. Indica, no entanto, a presença presumível de MTB e de resistência à rifampicina.

Os resultados do teste também podem ser afectados por antibioterapia antecedente ou concomitante. Por conseguinte, o sucesso ou insucesso terapêutico não pode ser avaliado com este teste porque o ADN pode persistir após a terapia antimicrobiana.

Mutações ou polimorfismos nas zonas de ligação do primer ou da sonda podem afectar a detecção de estirpes de MTB multirresistentes (MTB-MR) ou resistentes à RIF novas ou desconhecidas, provocando um resultado falso negativo.



## L. CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Esta secção lista as características e as limitações do desempenho do Xpert MTB/RIF Assay.

### L.1 TESTE DO DESEMPENHO - CLÍNICO

As características de desempenho do Xpert MTB/RIF Assay para detecção de TB e resistência à rifampicina foram avaliadas em cinco instituições na Ásia, Europa, África e América do Sul.<sup>12</sup>

O estudo foi efectuado em conformidade com o protocolo da Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND) *Xpert MTB Evaluation Study: Avaliação do FIND/Cepheid ensaio Xpert MTB para a detecção de TB pulmonar na expectoração de adultos sintomáticos*.

Entre os sujeitos contam-se pessoas com sintomas de TB pulmonar e em risco de multirresistência. Para os sujeitos elegíveis, foram recolhidas três amostras de expectoração para testar com o Xpert MTB/RIF Assay e testes de referência.

O desempenho do Xpert MTB/RIF Assay foi comparado com:

- Microscopia de esfregaço ZN
- Cultura em meio líquido (Becton Dickinson BACTEC™ 960 MGIT™) e sólido (Löwenstein-Jenson)
- Teste de susceptibilidade a fármacos (DST) na proporção L-J ou em MGIT abrangendo pelo menos quatro fármacos de primeira linha
- Testes NAAT padrão (Gen-Probe Amplified Mycobacterium TB Direct Test e Roche AMPLICOR® MTB Test) quando executados

As amostras incluíam amostras de expectoração colhidas para testes de rotina em pacientes suspeitos de infecção com tuberculose e em risco de TB multirresistente.

### L.2 RESULTADOS TOTAIS

Foram testadas no total 1448 amostras de expectoração quanto a MTB e resistência à RIF, pelo Xpert MTB/RIF Assay e microscopia de esfregaço e cultura bacteriana. As amostras em três das instalações participantes foram também avaliadas usando ou o AMPLICOR MTB Test (University of Cape Town, África do Sul e Índia) ou o Amplified Mycobacterium TB Direct Test (Azerbaijão). Dos 1448 participantes, 563 tinham esfregaço e cultura positivos para TB (S+C+), 170 tinham cultura positiva para TB e esfregaço negativo para TB (S-C+); a TB foi excluída em 618. Os restantes 97 pacientes receberam tratamento para a TB com base em sintomas clínicos e melhoraram com o tratamento TB, mas não foram testados por microscopia de esfregaço ou cultura; estes pacientes não estão incluídos nas análises de dados apresentados nas tabelas.

### L.3 RESULTADOS DA DETECÇÃO DE MTB

Globalmente, ao considerar o conjunto dos resultados de três amostras de expectoração por paciente, o Xpert MTB/RIF Assay demonstrou uma sensibilidade entre amostras positivas de cultura de 97,3% (713/733). Em pacientes S+C+, a sensibilidade do Xpert MTB/RIF Assay foi de 99,5% (560/563); em pacientes S-C+ a sensibilidade foi de 90,0% (153/170). A especificidade do Xpert MTB/RIF Assay em pacientes não TB foi de 97,9% (605/618). Consulte Tabela 3.

**Tabela 3.** Desempenho do Xpert MTB/RIF Assay em amostras de expectoração<sup>a,b</sup>

Centro	Sensibilidade S+C+	Sensibilidade S-C+	Especificidade
Peru	100% (199/199) [98,1%-100%]	83,3% (10/12) [55,2%-95,3%]	100% (102/102) [96,4%-100%]
Azerbaijão	100% (76/76) [95,2%-100%]	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]
África do Sul-1	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]
África do Sul-2	100% (30/30) [88,6%-100%]	86,7% (13/15) [62,1%-96,3%]	97,3% (213/219) [94,2%-98,7%]
Índia	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]
Global	99,5% (560/563) [98,4%-99,8%]	90,0% (153/170) [84,6%-93,7%]	97,9% (605/618) [96,4%-98,8%]

<sup>a</sup> Representa os resultados de 3 testes Xpert, 3 esfregaços e 4 culturas.

<sup>b</sup> S = esfregaço; C = cultura

Considerando apenas uma única amostra de expectoração directa, a sensibilidade do Xpert MTB/RIF Assay foi de 97,8% (545/557) em pacientes S+C+ e de 73,1% (122/167) em pacientes S-C+. A especificidade foi de 99,0% (605/611) em pacientes não TB.

### L.4 RESISTENTE À RIF

Globalmente, ao considerar um conjunto dos resultados de três amostras de expectoração por paciente, o Xpert MTB/RIF Assay demonstrou sensibilidade à detecção da resistência à RIF entre pacientes fenotipicamente resistentes à RIF de 96,1% (195/203). A especificidade do Xpert MTB/RIF Assay em pacientes fenotipicamente sensíveis à RIF foi de 98,6% (502/509). Consulte Tabela 4.

**Tabela 4.** Desempenho do Xpert MTB/RIF Assay em amostras de expectoração<sup>a</sup>

Centro	Sensibilidade em casos resistentes à RIF	Especificidade em casos sensíveis à RIF
Peru	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (190/193) [95,5%-99,5%]
Azerbaijão	95,5% (42/44) [84,9%-98,7%]	98,9% (90/91) [94,0%-99,8%]
África do Sul-1	93,8% (15/16) [71,7%-98,9%]	100% (126/126) [97,0%-100%]
África do Sul-2	100% (3/3) [43,8%-100%]	100% (38/38) [90,8%-100%]
Índia	96,0% (119/124) [90,9%-98,3%]	95,1% (58/61) [86,5%-98,3%]
Global	96,1% (195/203) [92,4%-98,0%]	98,6% (502/509) [97,2%-99,3%]

<sup>a</sup> Representa os resultados de 3 testes Xpert, 3 esfregaços e 4 culturas.

Considerando apenas uma só amostra de expectoração directa, a sensibilidade do Xpert MTB/RIF Assay para detecção da resistência à RIF foi de 97,2% (141/145) em pacientes resistentes à RIF. A especificidade em casos sensíveis à RIF foi de 98,3% (412/419). Consulte a Tabela.

**Tabela 5.** Desempenho do Xpert MTB/RIF Assay em amostras de expectoração

Centro	Sensibilidade em casos resistentes à RIF	Especificidade em casos sensíveis à RIF
Peru	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (180/183) [95,3%-99,4%]
Azerbaijão	97,4% (38/39) [86,8%-99,5%]	98,7% (74/75) [92,8%-99,8%]
África do Sul-1	90,9% (10/11) [62,3%-98,4%]	98,1% (102/104) [93,3%-99,5%]
África do Sul-2	100% (1/1) [20,7%-100%]	100% (23/23) [85,7%-100%]
Índia	97,4% (76/78) [91,1%-99,3%]	97,1% (33/34) [85,1%-99,5%]
Global	97,2% (141/145) [93,1%-98,9%]	98,3% (412/419) [96,6%-99,2%]

<sup>a</sup> Representa resultados de 1 teste Xpert directo, 3 esfregaços e 4 culturas.

Os resultados do Xpert MTB/RIF Assay sobre amostras das instalações onde foi também realizado um teste NAAT são apresentados em Tabela 6. O resultado do teste NAAT é apresentado para comparação.

**Tabela 6.** Comparação do desempenho do Xpert MTB/RIF Assay e de NAAT alternativo sobre amostras de expectoração

Estatística	Teste <sup>a</sup>	Azerbaijão	África do Sul-1	Índia	Global
Sensibilidade S+C+	Xpert(3)	100% (76/76) [95,2%-100%]	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	99,1% (331/334) [97,4%-99,8%]
	Xpert(1)	97,3% (73/75) [90,8%-99,3%]	96,8% (92/95) [91,1%-98,9%]	98,8% (159/161) [95,6%-99,7%]	97,9% (324/331) [95,7%-99,2%]
	NAAT	100% (76/76) [95,2%-100%]	93,7% (89/95) [86,9%-97,1%]	94,2% (147/156) [89,4%-96,9%]	95,4% (312/327) [92,3%-97,4%]
Sensibilidade S-C+	Xpert(3)	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	90,9% (130/143) [85,0%-95,1%]
	Xpert(1)	68,8% (44/64) [56,6%-78,8%]	86,3% (44/51) [74,3%-93,2%]	69,2% (18/26) [50,0%-83,5%]	75,2% (106/141) [67,2%-82,1%]
	NAAT	66,2% (43/65) [54,0%-76,5%]	45,7% (16/35) [30,5%-61,8%]	72,0% (18/25) [52,4%-85,7%]	61,6% (77/125) [52,5%-70,2%]
Especificidade	Xpert(3)	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]	97,6% (290/297) [95,2%-99,1%]
	Xpert(1)	97,2% (69/71) [90,3%-99,2%]	99,5% (185/186) [97,0%-99,9%]	100% (35/35) [90,1%-100%]	99,0% (289/292) [97,0%-99,8%]
	NAAT	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	100% (187/187) [98,0%-100%]	100% (36/36) [90,4%-100%]	99,0% (292/295) [97,1%-99,8%]

<sup>a</sup> Xpert(3) = resultados de 3 testes Xpert, 3 esfregaços, e 4 culturas; Xpert(1) = resultados de 1 teste Xpert directo, 3 esfregaços, e 4 culturas; NAAT = ProbeTec (Azerbaijão) e AMPLICOR (África do Sul e Índia); valor limiar de NAAT tratado como negativo.

Dos ensaios de Xpert MTB/RIF efectuados no âmbito deste estudo, 96,5% (4327/4484) tiveram êxito à primeira tentativa. Os restantes 157 produziram resultados indeterminados na primeira tentativa. Cento e oito das 157 amostras produziram resultados válidos com a repetição do teste. A taxa global de sucesso dos ensaios foi de 98,9% (4435/4484).

## L.5 SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

Foi efectuado um estudo para avaliar os potenciais efeitos inibitórios de substâncias que possam estar presentes na expectoração processada com o ensaio Xpert MTB/RIF. Estas incluíam, entre outras: sangue, pus, células de mamífero e hemoglobina. Estas substâncias foram testadas com uma concentração final na amostra de 5% (sangue, pus e células de mamífero) ou de 0,2% (hemoglobina) para determinar se havia algum efeito sobre o desempenho do Xpert MTB/RIF. Cada substância foi adicionada a uma amostra contendo cerca de 5 vezes o limite de detecção (LoD) de células-alvo de BCG e foi testada em duplicado.

Não foram observados efeitos inibitórios para qualquer das substâncias potencialmente interferentes, referidas anteriormente.

#### L.6 SENSIBILIDADE ANALÍTICA

Estudos adicionais foram efectuados para determinar o intervalo de confiança de 95% para o limite de detecção analítico (LoD) deste ensaio. O limite de detecção é definido como o menor número de unidades formadoras de colónias (UFC) por amostra que pode ser distinguido com reprodutibilidade das amostras negativas com 95% de confiança. O LoD analítico foi determinado testando 20 réplicas de diferentes concentrações de células de *M. tuberculosis* usadas para enriquecer amostras clínicas de expectoração negativas. Nas condições do estudo, os resultados indicam que a estimativa do ponto LoD para o *M. tuberculosis* é de 131 UFC/ml com um intervalo de confiança de 95% compreendido entre 106,2 UFC e 176,4 UFC. A estimativa e os intervalos de confiança foram determinados usando uma regressão logística com dados (número de positivos por número de testes para cada nível) obtidos com diferentes concentrações.

Os intervalos de confiança foram determinados utilizando estimativas de máxima probabilidade sobre os parâmetros do modelo logístico, utilizando a grande matriz de variância-covariância da amostra.

#### L.7 ESPECIFICIDADE ANALÍTICA (EXCLUSIVIDADE)

Foram testadas 18 micobactérias não tuberculosas, estirpes MNT (anteriormente MOTT), com o Xpert MTB/RIF Assay. Duas ou mais réplicas de cada isolado foram usadas para enriquecer amostras de expectoração negativas e testadas com uma concentração de  $10^6$  UFC/ml. Consulte Tabela 7.

**Tabela 7.** Estirpes MNT testadas quanto à especificidade

Estirpes MNT testadas ( $10^6$ UFC/ml)			
1	<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500	10	<i>M. genevenses</i> , n.º 51233
2	<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2501	11	<i>M. xenopi</i> , n.º 2278
3	<i>M. intracellulare</i> , n.º 35790	12	<i>M. szulgai</i> , Cap E9-1997
4	<i>M. intracellulare</i> , n.º 35771	13	<i>M. celatum</i> , n.º 51131
5	<i>M. kansasii</i> , n.º 12478	14	<i>M. marinum</i> , Cap E10
6	<i>M. scrofulaceum</i> , Cap E5-1985	15	<i>M. simiae</i> , n.º 25275
7	<i>M. malmoense</i> , n.º 29571	16	<i>M. asiaticum</i> , E1-1985
8	<i>M. fortuitum</i> , n.º 35754	17	<i>M. thermoresistable</i> , e22-1985
9	<i>M. chelonae</i> , n.º 35749	18	<i>M. flavescens</i> , PoH 193D

Nas condições do estudo, todos os isolados de MNT foram considerados MTB negativo.

Adicionalmente, de modo a determinar se as concentrações elevadas de MNT poderiam interferir na detecção de níveis baixos de TB, as estirpes listadas na Tabela 7 foram misturadas com a estirpe H37Rv de TB em expectoração com uma concentração final de  $10^6$  UFC/ml de MNT e de 200 UFC/ml de H37Rv.

Estirpes MNT testadas quanto à capacidade de interferir com a detecção de TB:

- *M. avium*, SmT Mc2, 2500
- *M. avium*, SmD Mc2, 2501
- *M. intracellulare*, n.º 35790
- *M. intracellulare*, n.º 35771
- *M. kansasii*, n.º 12478
- *M. malmoense*, n.º 29571

Cinco das seis estirpes não interferiram na detecção de 200 UFC/ml de *M. tuberculosis*; assim, os sinais foram os mesmos da H37Rv apenas. A sexta estirpe, *M. malmoense*, produziu uma interferência fraca para 10<sup>6</sup> UFC/ml, mas não interferiu para valores iguais ou inferiores a 10<sup>5</sup> UFC/ml. Por conseguinte, não há interferência na detecção de *M. tuberculosis*, mesmo com 10<sup>5</sup> UFC/ml de MNT.

Outros organismos, diferentes das microbactérias, (n = 59), que representam uma grande variedade de agentes patogénicos, contaminantes comuns e microflora normalmente presente na expectoração ou na boca, foram testados com uma concentração de 10<sup>6</sup> cópias de ADN por volume final de reacção. Todos os organismos foram correctamente identificados como sendo MTB negativos pelo Xpert MTB/RIF Assay. Foram incluídos no estudo controlos positivos e negativos. A especificidade era de 100%.

## L.8 ESPÉCIES/ESTIRPES TESTADAS QUANTO À ESPECIFICIDADE

Tabela 8 mostra espécies e estirpes testadas quanto à especificidade.

**Tabela 8.** Espécies/estirpes testadas quanto à especificidade

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus equi</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i> (estirpe do tipo 2)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157H7 (estirpe do tipo 1)	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

**L.9 INCLUSIVIDADE ANALÍTICA**

Foram testadas amostras de ADN de um total de 79 estirpes de MTB no GX usando um protocolo Xpert MTB/RIF modificado para testar ADN. Os componentes finais da reacção e as condições dos ciclos de PCR não foram alterados em relação ao protocolo concebido para testar amostras de pacientes. Setenta das estirpes pertenciam à colecção da OMS/TDR e nove à colecção do laboratório da Universidade de Medicina e Medicina Dentária de Nova Jérsea (UMDNJ). Colectivamente, estas estirpes representam isolados de 31 países e continham 37 isolados resistentes à rifampicina, compreendendo 13 mutações únicas da região “core” do gene *rpoB*. Estas mutações incluem todas as mutações do gene *rpoB* encontradas na base de dados do TDR (Tropical Diseases Research). As reacções negativas usaram água como amostra.

A mistura de reacção final continha 90 cópias genómicas de isolados num volume total de 100 µl.

Tabela 9 mostra que o ensaio Xpert MTB/RIF detectou correctamente todas as estirpes de MTB e identificou correctamente os isolados resistentes à rifampicina.

**Tabela 9.** Detecção de estirpes de MTB e isolados resistentes à rifampicina

			Resultados do GeneXpert		
			MTB positivo		MTB negativo
			RIF detectada	RIF não detectada	
Referência	MTB +	Resistente à RIF	37	0	0
		Sensível à RIF	0	42	0
	MTB –			0	0

**L.10 INACTIVAÇÃO ANALÍTICA DE MICOBACTÉRIAS EM AMOSTRAS DE EXPECTORAÇÃO**

A capacidade de desinfecção do reagente de amostra do Xpert MTB/RIF foi determinada usando um método de cultura tuberculicida quantitativo padronizado. As amostras de expectoração foram enriquecidas com uma concentração elevada de organismos *M. bovis* viáveis, misturadas com o reagente de amostra numa proporção de 2:1 e incubadas durante 15 minutos. Após a incubação a mistura reagente de amostra/expectoração foi neutralizada por diluição e filtração sendo, de seguida, efectuada a cultura. A viabilidade dos organismos *M. bovis* das amostras de expectoração tratadas foi reduzida em pelo menos 6 log relativamente ao controlo não tratado.

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

**M. REFERÊNCIAS**

1. WHO report 20081. [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/2008](http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008)
2. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394
3. Morris SL, Bai G, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. *Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis 1995; 171:954-60.
4. Ashok Rattan, Awdhesh Kalia, and Nishat Ahmad. *Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives*, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>
5. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: *Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians*, Second Edition.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
9. Laboratory Services in Tuberculosis Control: Part II, Microscopy WHO/TB/98.258; p 1-61.
10. Laboratory Services in Tuberculosis control: Part III Culture. WHO/TB/98.258. p 1- 74.
11. NCCLS, Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia, and other Aerobic Actinomycetes: Approved Standard. NCCLS document M24-A (ISBN 1- 56238-500-3). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898, USA. 2003.
12. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, et al. *Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance*. N Engl J Med 2010;363:1005-15.



## N. LOCAIS DAS SEDES DA CEPHEID

Sede corporativa	Sede europeia
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 EUA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont França
Telefone: +1 408.541.4191	Telefone: +33 563 825 300
Fax: +1 408.541.4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

## O. 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 Service Tag (etiqueta de serviço) do Computador

Região	Telefone	E-mail
EUA	+1 888.838.3222	TechSupport@cepheid.com
França	+33 563 825 319	Support@cepheideurope.com
Alemanha	+49 69 710 480 480	Support@cepheideurope.com
Reino Unido	+44 3303 332 533	Support@cepheideurope.com
África do Sul	+27 861 22 76 35	Support@cepheideurope.com
Outros países da Europa, do Médio Oriente e de África	+33 563 825 319 +971 4 253 3218	Support@cepheideurope.com
Austrália, Nova Zelândia	+61 1800 107 884	Support@cepheideurope.com
Outros países não indicados acima	+1 408.400.8495	TechSupport@cepheid.com

As informações de contacto para outros escritórios da Cepheid estão disponíveis no nosso website em [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) ou [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) no separador **SUPPORT (APOIO)**. Seleccione a opção **Contact Us (Contacte-nos)**.

## TABELA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
	Conformidade europeia
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código do lote
	Não reutilizar
	Atenção, consultar documentos anexos
	Fabricante
	Contém suficiente para <n> testes
	Utilizar até AAAA-MM-DD ou AAA-MM
	Controlo
	Limites de temperatura
	Consulte as instruções de utilização
	Riscos biológicos

**CEPHEID AB**

Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna  
Suécia

