

Xpert[®] SA Nasal Complete

REF GXSACOMP-CE-10

Copyright © 2013 Cepheid. Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid.

This product is licensed under US Patent Nos. 5,582,989 and 5,851,767 and corresponding claims of any non-US counterpart(s) thereof.

This product is sold under license from bioMérieux under US Patent No. 6,156,507 and corresponding claims of any non-US counterpart(s) thereof.

The purchase of this product includes a limited, non-transferable license under U.S. Patents Nos. 6,787,338; 6,503,720 and 6,303,305, and claims 9, 10, 11, 56, 76, 80 and 107 of U.S. Patent No. 6,174,670, and corresponding claims in patents and patent applications outside the United States, owned by the University of Utah Research Foundation and licensed to Idaho Technology, Inc., to use only this amount of product and only in an instrument marketed, distributed, sold, leased or otherwise transferred using a Cepheid trademark. No right is conveyed, expressly, by implication or estoppel, under any other patent or patent claims owned by the University of Utah Research Foundation or Idaho Technology, Inc. Without limiting the foregoing, no right, title or license is herein granted with respect to the uses that are proprietary to Idaho Technology or the University of Utah Research Foundation of fluorescence double stranded nucleic acid binding dyes, specifically including but not limited to SYBR® Green I, LCGreen® I, or LCGreen® Plus.

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

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® SA Nasal Complete (Português)

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

Nome patentado

Ensaio Xpert® SA Nasal Complete

Nome comum ou usual

Ensaio SA Nasal Complete

Utilização prevista

O ensaio Xpert SA Nasal Complete da Cepheid efectuado no sistema GeneXpert® Dx é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo concebido para a detecção rápida e simultânea de *Staphylococcus aureus* (SA) e *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) a partir de zargatoas nasais, em doentes em risco de colonização nasal, incluindo doentes pré-cirúrgicos. O teste utiliza a reacção em cadeia da polimerase automatizada em tempo real (PCR), para detectar o DNA de MRSA/SA. O ensaio Xpert SA Nasal Complete destina-se a auxiliar na prevenção e controlo das infecções por MRSA/SA em unidades de cuidados de saúde. O ensaio Xpert SA Nasal Complete Nasal não se destina a monitorizar o tratamento de infecções por MRSA/SA. As culturas em simultâneo apenas são necessárias para recolher organismos para tipagem epidemiológica ou para testes de susceptibilidade adicionais.

Resumo e explicação

O *Staphylococcus aureus* (SA) é um patógeno oportunista humano, bem documentado, e um importante patógeno nosocomial, que causa um espectro de doenças. Algumas das infecções mais graves causadas pelo *S. aureus* são a bacteriemia, pneumonia, osteomielite, endocardite aguda, síndrome de choque tóxico, intoxicação alimentar, miocardite, pericardite, cerebrite, meningite, corioamnionite, síndrome da epidermólise estafilocócica e abscessos dos músculos, tracto urogenital, sistema nervoso central e de vários órgãos intra-abdominais¹.

No início da década de 1950, a aquisição e disseminação de plasmídeos produtores de beta-lactamase diminuíram a eficácia da penicilina no tratamento de infecções por *S. aureus*. Em 1959, foi introduzida a meticilina, uma penicilina sintética. Contudo, em 1960, foram identificadas estirpes de *S. aureus* resistentes à meticilina. Determinou-se que esta situação resultava da aquisição pelo *S. aureus* do gene *mecA*. Actualmente nos EUA, o MRSA é responsável por cerca de 25% das infecções nosocomiais, tendo vindo a aumentar o número de notificações de casos de MRSA adquiridos na comunidade, resultando em morbidade e mortalidade significativas. Foram registadas 33% e 16% de mortalidades atribuíveis às bacteriemias causadas por MRSA e *S. aureus* (SA) sensível à meticilina, respectivamente. Também existem preocupações relativamente ao aumento dos custos associados às infecções por MRSA. Numa tentativa de limitar a propagação destas infecções, estão a ser desenvolvidas e implementadas estratégias e políticas de controlo nas unidades de cuidados de saúde. O controlo do MRSA é um objectivo principal da maioria dos programas de controlo de infecções hospitalares. Historicamente, o método padrão para detectar MRSA e SA consiste na cultura, a qual é bastante trabalhosa e pode necessitar de vários dias para gerar um resultado definitivo.²⁻⁷

Princípio do procedimento


Os GeneXpert Instrument Systems automatizam e integram a purificação das amostras, a amplificação dos ácidos nucleicos e a detecção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR e RT-PCR (transcriptase reversa-PCR) em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-instalado para efectuar testes e visualizar os resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos 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 uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do Operador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do Operador do GeneXpert Infinity System*.

O ensaio Xpert SA Nasal Complete inclui reagentes para a detecção de MRSA e SA, assim como um controlo de processamento da amostra (SPC) para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e para monitorizar a presença de inibidor(es) 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 e as sondas presentes no ensaio Xpert SA Nasal Complete detectam sequências patenteadas da proteína estafilocócica A (*spa*), o gene da resistência à meticilina/oxacilina (*mecA*) e a cassette no cromossoma estafilocócico (SCC*mec*), inserida no local cromossómico attB da SA.

Reagentes e instrumentos

Materiais fornecidos

 O kit do ensaio Xpert SA Nasal Complete contém reagentes suficientes para processar 10 amostras biológicas ou amostras de controlo da qualidade. O kit contém os seguintes itens:

Cartuchos do Ensaio Xpert SA Nasal Complete com tubos de reacção integrados	10
• Esfera 1, 2, e 3 (liofilizada)	1 de cada por cartucho
• Reagente 1	3,0 ml por cartucho
• Reagente 2 (Hidróxido de sódio)	3,0 ml por cartucho



Bolsas de reagente Xpert SA Nasal Complete	10
• Reagente de eluição (tiocianato de guanidina)	2,0 ml por bolsa

CD	1 por kit
• Ficheiro de definição de ensaio (ADF)	
• Instruções para importar ADF em sistema GeneXpert	
• Instruções	

Nota: As fichas de segurança para todos os reagentes fornecidos com este ensaio estão disponíveis por solicitação ao Cepheid Technical Support e encontram-se no sites da Cepheid (www.cephid.com e www.cephidinternational.com).

Nota: A albumina sérica bovina (BSA — bovine serum albumin) presente nas esferas foi produzida exclusivamente a partir de plasma bovino proveniente dos EUA. O fabrico da BSA também decorreu nos EUA. Nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal foi administrada aos animais; os animais foram aprovados em testes ante e post-mortem. Durante o processamento não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

Conservação e manuseamento

-  • Conserve os cartuchos e reagentes do ensaio Xpert SA Nasal Complete a 2-28 °C.
-  • Não utilize reagentes ou cartuchos fora do prazo da validade.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar um teste.
- Não utilize quaisquer reagentes que tenham ficado turvos ou descoloridos.





Materiais necessários não fornecidos

- GeneXpert Dx System ou GeneXpert Infinity System (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com GeneXpert software exclusivo versão 4.3 ou superior, lápis óptico para leitura de códigos de barras e manual do operador
- Impressora (consulte o *Manual do Operador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do Operador do GeneXpert Infinity System* para obter as orientações de compatibilidade)
- Agitador vortex
- Dispositivo de colheita de amostras Cepheid (ref. 900-0370)
- Gaze esterilizada
- Pipetas de transferência esterilizadas descartáveis

Materiais disponíveis não fornecidos

- KWIK-STIKs™ da MicroBiologics, n.º de catálogo 0158MRSa (*Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 700699 (Cepheid GeneXpert)) e n.º de catálogo 0360MSSA (*Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 25923 (Cepheid GeneXpert)), como controlos positivos externos, e n.º de catálogo 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* sensível à metilicina ATCC 1228 (Cepheid GeneXpert)) como controlo negativo externo.

Advertências e precauções



- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
-  • Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Como é muitas vezes impossível saber quais podem ser infecciosas, todas as amostras biológicas devem ser tratadas com precauções universais. As directivas para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention (CDC)⁸ e no Clinical and Laboratory Standards Institute (anteriormente, National Committee for Clinical Laboratory Standards) dos EUA.⁹
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- O Ensaio SA Nasal Complete não fornece resultados de susceptibilidade. É necessário tempo adicional para as culturas e para efectuar testes de susceptibilidade.
- Não substitua os reagentes do Ensaio SA Nasal Complete por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do Ensaio SA Nasal Complete, excepto ao adicionar amostra e reagentes ou ao repetir um teste.
- Não utilize um cartucho que caiu ou que foi agitado depois de ter adicionado a amostra tratada.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reacção danificado.
-  • Cada cartucho de utilização única do Ensaio SA Nasal Complete é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos usados.
- Consulte o pessoal responsável pelos resíduos ambientais da instituição para obter informações sobre a eliminação adequada dos cartuchos usados e dos reagentes não utilizados. Este material pode apresentar características de resíduos perigosos de acordo com a lei federal "Resource Conservation and Recovery Act" (RCRA - Lei da Recuperação e Conservação dos Recursos) da Associação de Protecção Ambiental (Environmental Protection Agency) dos EUA e deve cumprir os requisitos específicos sobre eliminação. Consulte os regulamentos locais e estatais, podem diferir dos regulamentos de eliminação federais. As instituições devem consultar os requisitos sobre a eliminação ambiental de resíduos perigosos do país.
- Não abra a embalagem de um cartucho até estar pronto para realizar o teste.
-  • O reagente 2 contém hidróxido de sódio (H302, H315, H319), que é irritante para os olhos e pele, e exige protecção ocular e facial.
-  • O reagente de eluição contém tiocianato de guanidina (H302, H316, H320, H402, EUH031), que é nocivo para os organismos aquáticos e o contacto com ácido liberta gases tóxicos.

Colheita, transporte e conservação de amostras

Para obter uma amostra adequada, siga cuidadosamente as instruções desta secção.

1. Abra o dispositivo de colheita Cepheid rompendo a embalagem exterior.
2. Humedeça a ponta de cada zaragatoa com 2-3 gotas de soro fisiológico esterilizado ou então use a zaragatoa seca.
3. Peça ao doente para inclinar a cabeça para trás. Insira as zaragatoas aproximadamente 1-2 cm na primeira narina.
4. Rode as zaragatoas contra o interior da narina durante 15 segundos. Aplique uma ligeira pressão com um dedo no exterior do nariz para ajudar a garantir o bom contacto entre a zaragatoa e o interior do nariz.
5. Utilizando as mesmas zaragatoas, repita na outra narina, tentando não tocar em nada excepto o interior do nariz.
6. Retire o tubo de transporte de plástico. Rode e retire a tampa do tubo e descarte-a. Coloque as zaragatoas dentro do tubo de transporte de plástico. As zaragatoas devem entrar totalmente dentro do tubo até pousarem na esponja no fundo do tubo. Certifique-se de que a tampa vermelha está bem fechada.

Nota: As zaragatoas devem permanecer sempre ligadas à tampa vermelha.

-  7. Rotule o tubo de transporte de plástico com a identificação (ID) do paciente e envie para a zona de ensaio do GeneXpert.
-  8. Conserve as amostras de zaragatoa à temperatura ambiente (15 a 30 °C) se forem processadas dentro de 24 horas; caso contrário, conserve entre 2 e 8 °C. A amostra de zaragatoa ficará estável até 5 dias quando conservada entre 2 e 8 °C.

Procedimento

Preparação do cartucho

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

Para adicionar a amostra ao cartucho:

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

Note: Utilize gaze esterilizada para minimizar o risco de contaminação.

3. Insira a zaragatoa no tubo que contém o reagente de eluição e quebre a zaragatoa.
4. Feche a tampa do frasco de eluição e agite-o em vortex a alta velocidade, durante 10 segundos.
5. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência estéril (não fornecida), transfira todos os conteúdos do reagente de eluição para a câmara “S” do cartucho do ensaio Xpert SA Nasal Complete. (Figura 1.)
6. Feche a tampa do cartucho.

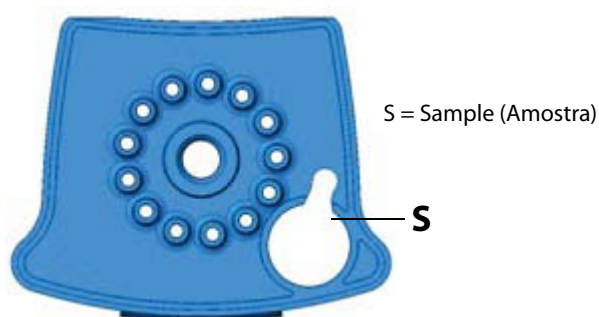


Figura 1. Cartucho SA Nasal Complete Assay (vista de cima).

Iniciar o teste

Importante: Antes de iniciar o teste, certifique-se de que a definição do ensaio Xpert SA Nasal Complete foi importada para o software.

Esta secção enumera os passos predefinidos para utilizar o sistema do instrumento GeneXpert. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do Operador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do Operador do GeneXpert Infinity 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 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 inicia automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.

ou

 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, ligue o instrumento. O software GeneXpert inicia automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do GeneXpert System, clique **Create Test** (Criar teste) (GeneXpert Dx) ou **Orders** (Encomendas) e em **Order Test** (Encomendar teste) (Infinity). A janela **Create Test** (Criar teste) abre.
4. Digitalize a ID do paciente (opcional). Se digitar a ID da amostra, assegure-se de que digita correctamente a ID da amostra. A ID do Paciente é associada aos resultados do teste e é visualizada na janela **View Results** (Ver resultados).
5. Digitalize ou introduza a ID da amostra. Se introduzir a ID da amostra, assegure-se de que introduz a ID da amostra correcta. A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é visualizada na janela **View Results** (Ver resultados).

-
6. Digitalize código de barras do cartucho do Xpert SA Nasal Complete. Utilizando as informações do código de barras, o software preencherá automaticamente as caixas dos campos seguintes: Select Assay (Seleccionar ensaio), Reagent Lot ID (ID do lote do reagente), Cartridge SN (Nº de série do cartucho) e Expiration Date (Prazo de validade).

Nota: Se não for possível digitalizar o código de barras do cartucho do Xpert SA Nasal Complete, repita o procedimento num novo cartucho

7. Clique em **Start Test** (Iniciar teste) (GeneXpert Dx) ou **Submit** (Enviar) (Infinity). Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que aparece.
8. Para o GeneXpert Infinity System: 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

Para o 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 inicia-se e a luz verde pára de piscar. Quando o teste termina, a luz apaga-se.
- c. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo e retirar 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.

Visualização e impressão dos resultados

Para obter instruções detalhadas sobre a forma de visualizar e imprimir os resultados, consulte o *Manual do Operador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do Operador do GeneXpert Infinity System*.

CONTROL Controlo de qualidade

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

Controlo de processamento da amostra (SPC) — Assegura que a amostra foi correctamente processada. O SPC contém esporos de *Bacillus globigii*, sob a forma de um bolo de esporos secos que é incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado da amostra do ensaio Xpert SA Nasal Complete. O SPC verifica se ocorreu a lise do *Staphylococcus aureus* 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.

Controlo de verificação da sonda (PCC) — Antes do início da reacção de PCR, o sistema GeneXpert 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. A verificação da sonda é aprovada se preencher os critérios de aceitação atribuídos.

- Controlos externos — KWIK-STIK (MicroBioLogics, ref. 0158 MRSA e ref. 0360 SA como controlos positivos, e ref. 0371 MSSE como controlo negativo) podem ser utilizados para formação, testes de proficiência e controlo de qualidade externo do sistema GeneXpert. Os controlos externos podem ser utilizados de acordo com os organismos de acreditação locais, regionais e nacionais, conforme aplicável. Siga o procedimento do controlo externo da MicroBioLogics descrito a seguir:
 1. Abra a bolsa no entalhe e retire o KWIK-STIK.
 2. Aperte o fundo da ampola na tampa para libertar o líquido hidratante.
 3. Segure na vertical e bata levemente para facilitar a passagem do líquido pela haste até ao fundo da unidade que contém o pellet.
 4. Para facilitar a dissolução do pellet de células liofilizadas, esmague-o e aperte suavemente a câmara inferior.
 5. Rasgue o KWIK-STIK para libertar a zaragatoa e insira-a no tubo que contém o reagente de eluição (tampa preta).
 6. A zaragatoa KWIK-STIK está agora pronta para o teste do Ensaio SA Nasal Complete.

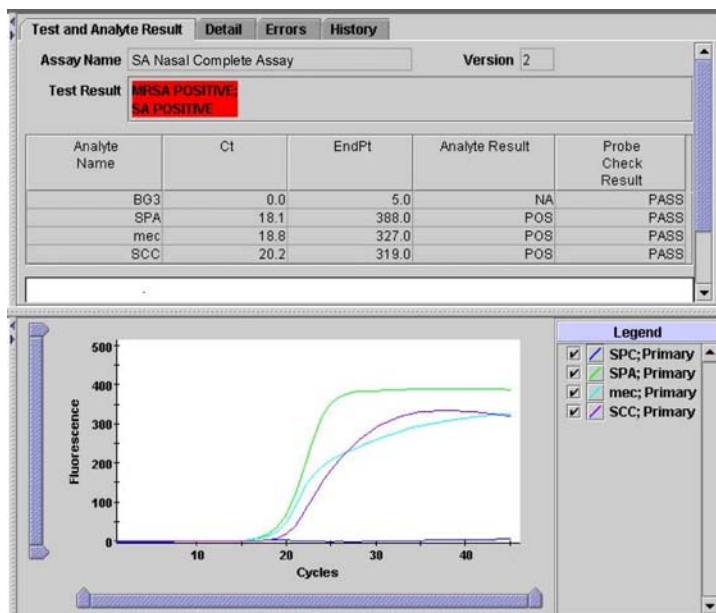


Figura 2. Exemplo de um resultado positivo

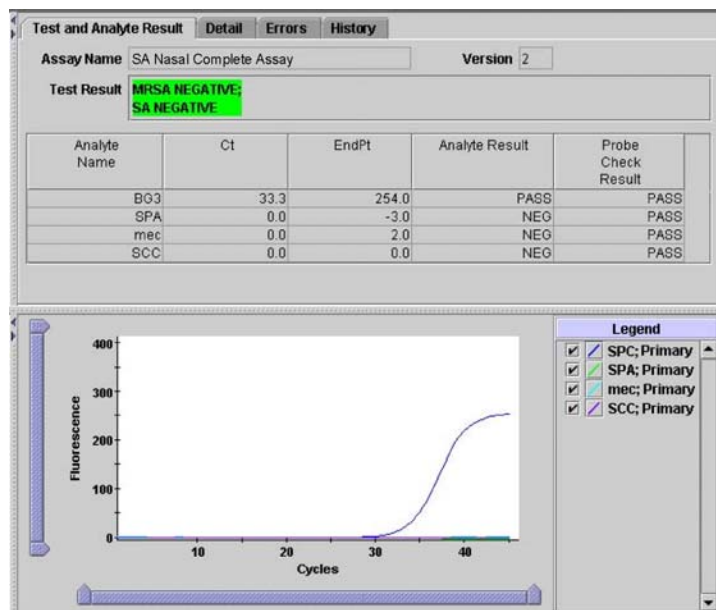


Figura 3. Exemplo de um resultado negativo

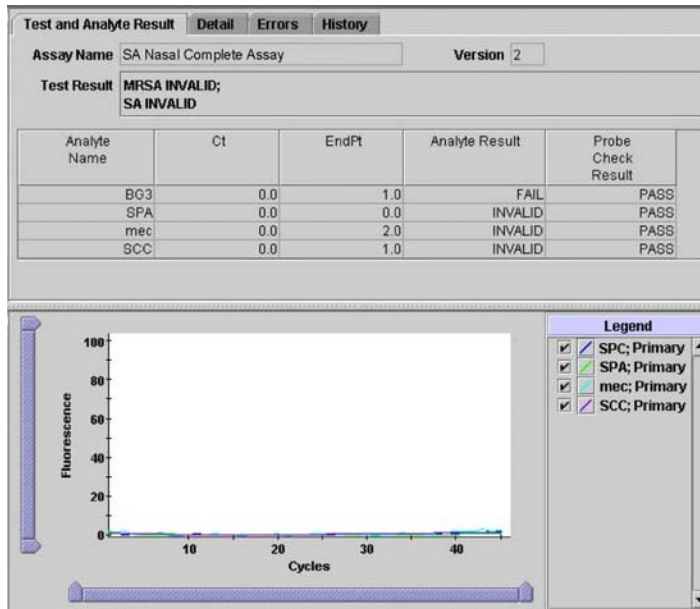


Figura 4. Exemplo de um resultado inválido

Interpretação dos resultados

Os resultados são interpolados pelo sistema GeneXpert a partir dos sinais de fluorescência medidos e dos algoritmos de cálculo incorporados, sendo apresentados na janela "View Results" (Ver resultados). Os resultados possíveis são:

MRSA POSITIVE/SA POSITIVE (MRSA POSITIVO/SA POSITIVO)

Detectadas sequências-alvo de DNA de MRSA/detectada sequência-alvo de DNA de SA.

- MRSA POSITIVE (MRSA POSITIVO) — todos os alvos MRSA têm um limite de ciclo (Ct) dentro do intervalo válido e endpoint acima do valor mínimo.
- SPC — NA (não aplicável); o SPC é ignorado na medida em que a amplificação de MRSA pode competir com este controlo.
- Probe Check — PASS (Verificação da sonda — APROVADA); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE (MRSA NEGATIVO/SA POSITIVO)

Não foram detectadas sequências-alvo de DNA de MRSA/detectada sequência-alvo de DNA de SA.

- SA POSITIVE (SA POSITIVO) — apenas o SA-alvo tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint acima do valor mínimo.
- SPC — NA (não aplicável); o SPC é ignorado na medida em que a amplificação de SA pode competir com este controlo.
- Probe Check — PASS (Verificação da sonda — APROVADA); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE (MRSA NEGATIVO/SA NEGATIVO)

não foi detectada sequência-alvo de DNA do SA. O SPC cumpre os critérios de aceitação.

- NEGATIVO — não foi detectado DNA alvo do SA.
- SPC — PASS (SPC — APROVADO); o SPC tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint acima do valor mínimo.
- Probe Check — PASS (Verificação da sonda — APROVADA); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

INVALID (INVÁLIDO)

A presença ou a ausência de sequências-alvo de MRSA/SA não pode ser determinada, repita o teste com uma nova amostra.

O SPC não preenche os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou o PCR foi inibido.

- INVALID (INVÁLIDO) — Não pode ser determinada a presença ou ausência de DNA de SA.
- SPC-FAIL (SPC-NÃO APROVADO) — o resultado do alvo do SPC é negativo, o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido e o endpoint está abaixo do valor mínimo.
- Probe Check — PASS (Verificação da sonda — APROVADA); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

ERROR (ERRO)

A presença ou a ausência de MRSA/SA não pode ser determinada, repita o teste com uma nova amostra. O controlo de verificação da sonda falhou, provavelmente devido ao enchimento inadequado do tubo de reacção, à detecção de um problema de integridade da sonda ou porque os limites máximos da pressão foram excedidos.

- MRSA — NO RESULT (MRSA — SEM RESULTADO)
- SA — NO RESULT (SA — SEM RESULTADO)
- SPC — SEM RESULTADO
- Probe Check — FAIL* (Verificação da sonda — NÃO APROVADA)*; um ou mais resultados da verificação da sonda falharam

*Se a verificação da sonda for aprovada, o erro é causado por uma falha de um componente do sistema.

NO RESULT (SEM RESULTADO)

A presença ou a ausência de MRSA/SA não pode ser determinada, repita o teste com uma nova amostra. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste. Por exemplo, isto pode ocorrer se o operador interrompeu um teste que estava a decorrer.

- MRSA — NO RESULT (MRSA — SEM RESULTADO)
- SA — NO RESULT (SA — SEM RESULTADO)
- SPC — SEM RESULTADO
- Probe Check — NA (Verificação da sonda — não aplicável)

Motivos para repetir um ensaio

Se ocorrer algum dos resultados mencionados a seguir, repita o teste usando uma nova amostra, novo cartucho (não reutilize o cartucho) e novos reagentes. Siga as instruções para iniciar um novo teste (consulte a secção "Procedimento/Preparação do cartucho").

- Um resultado INVÁLIDO indica que o controlo SPC falhou. A amostra não foi processada correctamente ou o PCR foi inibido.
- Um resultado com ERRO indica que o ensaio foi cancelado, possivelmente devido ao enchimento inadequado do tubo de reacção, a um problema de integridade da sonda de reagente ou porque os limites máximos da pressão foram excedidos.
- SEM RESULTADO indica que os dados recolhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava a decorrer.

Limitações

O desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete foi validado utilizando apenas os procedimentos fornecidos neste folheto. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.

Substâncias interferentes

Usando o ensaio Xpert SA Nasal Complete, foi efectuado um estudo para avaliar os potenciais efeitos inibitórios, se existentes, de substância(s) que possam estar presentes nas amostras nasais. As potenciais substâncias inibitórias podem incluir, entre outras, sangue, secreções nasais ou muco e sprays nasais utilizados no alívio da congestão, secura ou irritação nasal. As substâncias foram testadas por diluir (excepto o muco) em réplicas de oito com células de MRSA enriquecidas junto do Limite de detecção analítico (~3-4x LoD). Foram usadas soluções a 10% e 5% (p/v) de mucina de suíno para simular as secreções nasais e expectoração viscosas. Foram também testadas amostras negativas para determinar o efeito no desempenho do controlo de processamento da amostra (SPC).

Sob as condições do estudo e usando o ensaio Xpert SA Nasal Complete, todas as amostras negativas foram correctamente reportadas como negativas para MRSA; negativas para SA. Nenhuma das potenciais substâncias interferentes teve um efeito inibitório no desempenho do SPC, com significado estatístico, em amostras negativas, p=0,734.

Usando o ensaio Xpert SA Nasal Complete, todas as amostras positivas foram correctamente reportadas como sendo positivas para MRSA; positivas para SA, em níveis próximos do limite de detecção (LoD) analítico. A análise ANOVA a um factor indica um ligeiro mas estatisticamente significativo desvio do Ct para os alvos do MRSA, *spa* ($p=0,024$) e *mecA* ($p=0,002$), na presença de 10% de mucina. Contudo, as diferenças médias de Ct entre 10% de mucina e o controlo do tampão para *spa* e *mecA* foram de 0,34 e 0,63, respectivamente, e não foram consideradas como sendo significativas na prática. O sinal do SCC_{*mec*} não foi significativamente afectado por 10% de mucina ($p=0,339$).

Características de desempenho

As características de desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete foram determinadas num estudo de investigação prospectivo multicêntrico, realizado em duas instituições dos EUA, que comparou o ensaio Xpert SA Nasal Complete no sistema GeneXpert com a cultura (directa e enriquecida). Os participantes incluíam doentes internos e externos em risco de colonização nasal por *S. aureus*.

Foram colhidas zaragoas em duplicado de cada participante. Uma zaragatoa foi testada pelo ensaio Xpert SA Nasal Complete no centro de recrutamento do doente, a outra zaragatoa foi testada num laboratório central através de cultura.

No laboratório central e após enriquecimento durante a noite em caldo tripticase-soja com 6,5% de NaCl, a amostra foi semeada directamente em placas de ágar cromogénicas selectivas com e sem cefoxitina. As placas com cefoxitina foram incubadas durante 24-48 horas a 35 a 37°C. As placas sem cefoxitina foram incubadas durante 24 horas a 33 a 37°C. A confirmação de colónias presumivelmente positivas foi realizada com catalase, um teste da coagulase em tubo e coloração Gram. A susceptibilidade à oxacilina/meticilina foi testada através de um teste de difusão em disco, utilizando um disco de 30 µg de cefoxitina e um valor limite (cutoff) de 21/22 mm.

O desempenho do ensaio Xpert SA Nasal Complete foi calculado em relação aos resultados da cultura directa e enriquecida.

Resultados totais

Para determinação de MRSA e SA foi testado um total de 744 amostras através do ensaio Xpert SA Nasal Complete e de cultura. O ensaio Xpert SA Nasal Complete identificou 100% de amostras positivas para MRSA e 95,8% de amostras negativas para MRSA, relativamente ao método de cultura directa. Para as amostras testadas, o valor preditivo positivo para MRSA era de 74,1% e o valor preditivo negativo para MRSA era de 100% (Tabela 1).

O ensaio Xpert SA Nasal Complete identificou 99,3% de amostras positivas para SA e 83,8% de amostras negativas para SA, relativamente ao método de cultura directa. Para as amostras testadas, o valor preditivo positivo para SA era de 61,3% e o valor preditivo negativo para SA era de 99,8% (Tabela 2).

O ensaio Xpert SA Nasal Complete identificou 88,2% de amostras positivas para MRSA e 98,3% de amostras negativas para MRSA, relativamente ao método de cultura enriquecida. Para as amostras testadas, o valor preditivo positivo para MRSA era de 89,8% e o valor preditivo negativo para MRSA era de 98,0% (Tabela 3).

O ensaio Xpert SA Nasal Complete identificou 92,7% de amostras positivas para SA e 91,4% de amostras negativas para SA, relativamente ao método de cultura enriquecida. Para as amostras testadas, o valor preditivo positivo para SA era de 81,9% e o valor preditivo negativo para SA era de 96,8% (Tabela 4).

Tabela 1. MRSA — Cultura directa

		Cultura				
		+	-			
Ensaio Xpert SA Nasal Complete	+	80	28	108	Sensibilidade	100%
	-	0	636	636	Especificidade	95,8%
		80	664	744		

Tabela 2. SA — Cultura directa

		Cultura				
		+	-			
Ensaio Xpert SA Nasal Complete	+	152	96	248	Sensibilidade	99,3%
	-	1	495	496	Especificidade	83,8%
		153	591	744		

Tabela 3. MRSA — Cultura enriquecida

		Cultura				
		+	-			
Ensaio Xpert SA Nasal Complete	+	97	11	108	Sensibilidade	88,2%
	-	13	623	636	Especificidade	98,3%
		110	634	744		

Tabela 4. SA — Cultura enriquecida

		Cultura				
		+	-			
Ensaio Xpert SA Nasal Complete	+	203	45	248	Sensibilidade	92,7%
	-	16	480	496	Especificidade	91,4%
		219	525	744		

Especificidade analítica

Usando o ensaio Xpert SA Nasal Complete, foram testadas culturas de 98 estirpes da American Type Culture Collection (ATCC) e 7 estirpes da Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA), representando espécies filogeneticamente relacionadas com o *S. aureus* ou com estafilococos potencialmente existentes num ambiente hospitalar, 29 estirpes de estafilococos coagulase negativos sensíveis à meticilina e 9 estirpes de estafilococos coagulase negativos resistentes à meticilina. Os organismos testados representaram 74 espécies Gram positivo, 28 Gram negativo, 3 leveduras, 95 aeróbias e 10 anaeróbias. Dois ou mais replicados de cada isolado foram testadas a 1,7 - 3,2 unidades de McFarland. Sob as condições do estudo, todos os isolados foram notificados como negativos para MRSA e SA, nenhum dos isolados foi detectado pelo ensaio Xpert SA Nasal Complete. Foram incluídos no estudo controlos positivos e negativos. A especificidade era de 100%.

Ubiquidade (inclusividade) analítica

A ubiquidade (inclusividade) analítica do ensaio Xpert SA Nasal Complete foi determinada usando 25 estirpes de *Staphylococcus aureus* fornecidas pelos CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Estas espécies são reportadas como sendo representativas das estirpes MRSA e MSSA (*S. aureus* sensível à meticilina) que actualmente podem ser encontradas na comunidade dos cuidados de saúde. Todas as estirpes foram testadas em triplicado utilizando 100 µl de suspensões de células em fase estacionária diluídas 10 milhões de vezes. O painel consiste em estirpes de MRSA representando os tipos SCC_{mec} II, IV, IVa, IVb e IVc para além de vários tipos desconhecidos. Os dados fornecidos pelo CDC indicam que estas estirpes, quando caracterizadas por electroforese em gel de campo pulsado (PFGE), representam numerosos tipos USA, incluindo o tipo USA 100, a estirpe adquirida com maior frequência nos hospitais e o USA 300 e 400, as estirpes adquiridas com maior frequência na comunidade.¹⁰

Como se ilustra na Tabela 5, todas as estirpes de MRSA foram correctamente notificadas como sendo positivas para MRSA e SA, usando o ensaio Xpert SA Nasal Complete. Adicionalmente, cada estirpe de MSSA foi correctamente reportada como sendo negativa para MRSA e positiva para SA. Os valores de Ct representam a média das três réplicas. Após CHROMagar e o ensaio Xpert SA Nasal Complete, os resultados foram comunicados ao CDC. O CDC indicou que o ensaio Xpert SA Nasal Complete não identificou correctamente a amostra 95:99. A amostra 95:99 foi rotulada incorrectamente pelo CDC. A amostra 95:99 foi correctamente reportada como sendo negativa para MRSA e SA pelo ensaio Xpert SA Nasal Complete. As unidades formadoras de colónias por ensaio foram determinadas por contagens em placa em duplicado.

Tabela 5. Ubiquidade analítica do ensaio Xpert SA Nasal Complete

ID lab.	Remetente	Origem	Tipo PFGE	Tipo SCC _{mecA}	Resultado CHROMagar MRSA	Resultado ensaio Xpert	Ct SPC	Ct spa	Ct mecA	Ct SCC	UFC/ensaio
94:1013	VT	Lesão cutânea	USA1000	IV	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	34,7	30,7	31	32,6	152
*95:99	CT	Sangue	USA500	IV	-	MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO	34,1	0	0	0	37
96:308	NM	Fezes	USA900	MSSA	-	MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO	34	29,4	0	0	201
96:281	NC	Sangue	USA200	II	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	33,4	33,6	34	35,3	101
148-99	NY	Sangue	USA600	II	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	34,3	33,2	33,1	35,2	43
182-99	MN	Desconhecida	USA400	Iva	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	43,7	26,7	27,1	28,7	417
18626	OH	Sangue	USA100	II	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	34,8	30,7	31	32,7	138
0:50	TN	Fezes	USA600	sem tipagem	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	33,6	31,2	31,4	33,2	115
0-25-4	MS	Nasal	USA700	Iva	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	35,5	29,1	29,3	30,9	178
0-25-37	MS	Pele/tecidos moles	USA300	Iva	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	34,7	32,3	32,7	34,2	94
1-1-81	WA	Nasal	USA400	sem tipagem	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	34,3	33	33,7	35,5	106
1-1-493	WA	Ferida	USA800	IV	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	33,7	31,5	31,7	33,4	113
N7129	NHANES	Nasal	USA900	MSSA	-	MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO	34,3	29,9	0	0	84
107-03	NV	Sangue	USA200	sem tipagem	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	34	33	33,3	34,9	99
GA201	GA-ABC	Desconhecida	USA100	II	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	33,6	32,3	32,4	34	95
GA217	GA-ABC	Desconhecida	USA300	IVb	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	33,6	30,8	31,2	33	121

Tabela 5. Ubiquidade analítica do ensaio Xpert SA Nasal Complete

ID lab.	Remetente	Origem	Tipo PFGE	Tipo SCC _{mec}	Resultado CHROMagar MRSA	Resultado ensaio Xpert	Ct SPC	Ct spa	Ct mecA	Ct SCC	UFC/ensaio
GA229	GA-ABC	Desconhecida	USA500	IV	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	37,8	31,7	31,9	33,3	81
7031	AK	Abcesso	USA1100	IVa	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	34,2	30,8	31,5	32,9	73
102-04	CA	Nasal	USA1200	MSSA	-	MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO	33,9	29,4	0	0	110
8-03	WI	Desconhecida	USA700	sem tipagem	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	33,3	29	29,2	30,9	202
510-04	Uruguai	Abcesso	USA1100	IVc	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	34,6	31,5	32	33,8	143
27-05	HI	Ferida	USA800	IVc	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	40,7	27,8	28,1	29,8	373
CA46	CA	Sangue	USA1000	IV	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	33,4	32,6	33,7	35,8	81
398-05	HI	Ferida	USA1000	IVb	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	33,6	32,8	33,4	35,9	59
N4151	NHANES	Nasal	USA800	IVb	+	MRSA POSITIVO; SA POSITIVO	34	30,7	31,2	32,9	101

* Amostra 95:99: Após CHROMagar e o ensaio Xpert SA Nasal Complete, os resultados foram comunicados ao CDC. O CDC indicou que o ensaio Xpert SA Nasal Complete identificou correctamente a amostra 95:99. A amostra 95:99 foi rotulada incorrectamente pelo CDC. A amostra 95:99 foi correctamente notificada como sendo negativa para MRSA e SA pelo ensaio Xpert SA Nasal Complete. A informação contida nas colunas cinzentas foi fornecida à Cepheid pelo CDC.

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. Para o SA, foram avaliadas réplicas de 20 com quatro concentrações (0, 50, 100 e 150 UFC/amostra). Para o MRSA (células do tipo SCC_{mec} II), foram avaliadas réplicas de 20 com quatro concentrações (0, 25, 50 e 125 UFC/amostra).

Nas condições do estudo, os resultados indicam que a estimativa do ponto LoD para o SA é de 93,7 UFC/amostra com um intervalo de confiança de 95% compreendido entre 75,5 UFC e 137,8 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 em quatro níveis (0, 50, 100 e 150 UFC/amostra). Repare que o LoD analítico para SA será notificado de modo conservador como sendo 138 UFC/amostra.

A estimativa do ponto LoD para o MRSA é de 43,9 UFC/amostra com um intervalo de confiança de 95% compreendido entre 35,7 UFC e 68,3 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 em quatro níveis (0, 25, 50 e 125 UFC/amostra). Repare que o LoD analítico para MRSA será notificado de modo conservador como sendo 70 UFC/amostra.

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.

Bibliografia

1. Bannerman TL. 2003 Capítulo 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Páginas 384-404.
2. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al.. 2006. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in the United States, 2001-2002. *An Family Medicine*. 4(2):132-137.
3. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004. 2004. *Am J Infect Control* 32:470-485.
4. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of endemic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Medical Assoc*. 282(19):1745-1751.
5. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 7(2):323-326.
6. Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. *CID* 36:131.
7. Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in hospitals. *Antimicrobial. Agents Chemother*. 51: 4342 – 4350.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Documento M29 (refere-se à edição mais recente).
10. McDougal L, Steward C, Killgore G, Chaitram J, McAllister S, Tenover F. Pulsed-Field Gel Electrophoresis Typing of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from the United States: Establishing a national Database. *J Clin Micro* 2003;41(11):5113-20.

Assistência

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

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

Região	Telefone	E-mail
América do Norte	+1.888.838.3222	
	Apoio de vendas: Opção 1	CustomerService@cepheid.com
	Assistência Técnica: Opção 2	TechSupport@cepheid.com
	Apoio a clientes: Opção 3	Cepheid.ServiceSupport@cepheid.com
	Contactos para assistência ao instrumento: Opção 4	Service.Contracts@cepheid.com
União Europeia	Apoio de vendas: +33.563.82.53.14 Assistência Técnica: +33.563.82.53.19 Apoio a clientes (apenas calibrações): +33.563.82.53.52	Support@cepheideurope.com

A nossa sede empresarial situa-se na América do Norte.

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089-1189
EUA

Telefone: +1.408.541.4191
Fax: +1.408.541.4192

www.cepheid.com

Para obter assistência técnica fora da América do Norte, pode contactar a Cepheid Europe para obter ajuda.

Cepheid Europe S.A.S.
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
França

Telefone: +33.563.82.53.00
Fax: +33.563.82.53.01

www.cepheidinternational.com/

As informações de contacto dos outros escritórios da Cepheid estão disponíveis no nosso website em <http://www.cepheid.com/company/contact-us/>.

Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Referência
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Não reutilizar
	Código do lote
	Marcação CE – Conformidade Europeia
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Atenção
	Consultar os documentos anexos
	Fabricante
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Prazo de validade
	Controlo
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Suécia

Produto da Suécia



Cepheid Europe S.A.S.
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
França

Telefone: +33.563.82.53.00
Fax: +33.563.82.53.01
E-mail: support@cepheideurope.com

