

















Artigo original

Rapidez diagnóstica na detecção de carbapenemases como estratégia de políticas públicas no controle e prevenção de infecção hospitalar

Rapid diagnostic detection of carbapenemases as a public policy strategy for the control and prevention of hospital infections

Ana Beatriz Nascimento Costa^[1], Ana Carolina Cavalcante Tiburcio^[1], Akemi Oshiro Guirelli^[1], Andréia Moreira dos Santos Carmo^[1], Vilma dos Santos Menezes Gaiotto Daros^[1], Ivana Barros de Campos^[1], Jaqueline Maria Lima Gerbase^[3], Maria Edvania Ferreira Teodoro^[3], Murilo Carlos Britto^[3], Murillo Magalhães Rocha^[3], Carlos Henrique Camargo^[2], Amanda Yaeko Yamada^[2], Daniel de Sena Miranda^[2], Alice Siniauskas^[4], Bárbara Albares^[4], Christiane Priscile Salvador^[4], Maria Solange Duarte Soares^[4], Maria Cecilia Cergole-Novella^[1]

^[1]Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças, Instituto Adolfo Lutz, Laboratório de Bacteriologia, Santo André, São Paulo, Brasil

^[2]Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças, Instituto Adolfo Lutz, Centro de Bacteriologia, São Paulo, São Paulo, Brasil

^[3]Hospital de Clínicas Dr. Radamés Nardini, Mauá, São Paulo, Brasil

^[4]Laboratório Biomega Medicina Diagnóstica, São Paulo, São Paulo, Brasil

Autor para correspondência

Maria Cecilia Cergole Novella

E-mail: maria.novella@ial.sp.gov.br

Instituição: Instituto Adolfo Lutz (IAL)

Endereço: Av. Ramiro Coleone 240, Vila Dora, CEP: 09040-160. Santo André, São Paulo, Brasil

Como citar

Costa ABN, Tiburcio ACC, Guirelli AO, Carmo AMS, Daros VSMG, Campos IB et al. Rapidez diagnóstica na detecção de carbapenemases como estratégia de políticas públicas no controle e prevenção de infecção hospitalar. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 2025; 22: e41456.

DOI: <https://doi.org/10.57148/bepa.2025.v.22.41456>

Primeira submissão: 20/01/2025 • Aceito para publicação: 14/08/2025 • Publicação: 10/09/2025

Editora-chefe: Regiane Cardoso de Paula

Resumo

Introdução: Resistência bacteriana é uma ameaça global associada a surtos hospitalares que resulta em aumento de morbidade, mortalidade, tempo de internação e custos no tratamento do paciente. Os desafios terapêuticos associados à resistência aos carbapenêmicos criaram a necessidade de contenção e prevenção da transmissão. **Objetivo:** Alcançar rapidez diagnóstica e comparação metodológica na detecção de carbapenemases em amostras clínicas de modo a contribuir como programa de controle de infecções, especialmente durante surtos. **Métodos:** Foram incluídos 155 pacientes, 73 mulheres e 82 homens entre 21 e 86 anos, sendo a maioria internados na unidade de terapia intensiva (98). Foram realizados 163 testes: *swabs* retais (93), urinas (36), *swabs* retais (8) combinados a urinas (8), e secreções pulmonares (18). A detecção de carbapenemases foi realizada pelo teste GeneXpert Carba-R e cultura bacteriana seguidos de PCR multiplex com identificação de complexos clonais. **Resultados:** A cultura detectou bactérias resistentes (51): *Klebsiella pneumoniae* (24), *A. baumannii* (19), *Pseudomonas aeruginosa* (7) e *Providencia rettgeri*. De acordo com o Xpert Carba-R, a maioria dos pacientes apresentou bla_{KPC} (26) e 123 pacientes foram relatados como não detectados (ND). Dos 18 resultados Xpert ND, mas com crescimento de *A. baumannii* na cultura, foi observada a prevalência de bla_{OXA-23} e $bla_{OXA-51/CC-02}$. **Conclusão:** A detecção precoce de isolados produtores de carbapenemases, por meio do teste Xpert Carba-R, em 48 minutos, serve como guia para planejamento de políticas públicas. Contudo, como o teste está limitado à detecção de cinco genes, devemos manter os métodos fenotípicos "padrão-ouro", cultura e antibiograma, para evitarmos falsos negativos.

Palavras-chave: carbapenêmicos, infecção hospitalar, políticas públicas, resistência bacteriana, antibióticos.

Abstract

Introduction: Bacterial resistance is a global threat associated with hospital outbreaks that result in increased morbidity, mortality, length of hospital stay, and patient care costs. The therapeutic challenges associated with carbapenem resistance have raised awareness for containment and prevention of transmission. **Objective:** To achieve rapid diagnostic and methodological comparison in detecting carbapenemases in clinical samples to significantly aid the infection control program, especially during outbreaks. **Methods:** A total of 155 patients, 73 women and 82 men between 21 and 86 years old, were included, most of whom were admitted to the intensive care unit (98). A total of 163 tests were performed: rectal swabs (93), urine (36), rectal swabs (8) and urine (8) combined, and lung secretions (18). Carbapenemase detection was performed by the GeneXpert Carba-R test and bacterial culture followed by multiplex PCR with identification of clonal complexes. **Results:** Culture detected resistant bacteria (51): *Klebsiella pneumoniae* (24), *A. baumannii* (19), *Pseudomonas aeruginosa* (7) and *Providencia rettgeri*. According to Xpert Carba-R, most patients presented bla_{KPC} (26) and 123 patients were reported as not detected (ND). Of the 18 Xpert ND results, with the growth of *A. baumannii* in culture, the prevalence of bla_{OXA-23} and $bla_{OXA-51/CC-02}$ was observed. **Conclusion:** Early detection of carbapenemase-producing isolates, using the Xpert Carba-R test in 48 minutes, serves as a guide for public policy planning. However, since the test is limited to the detection of five genes, we should maintain the "gold standard" phenotypic methods, culture, and antibiogram, to avoid false negatives.

Keywords: carbapenems, hospital infection, public policies, bacterial resistance, antibiotics.

Introdução

A proliferação global das espécies bacterianas produtoras de carbapenemase, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, microrganismos resistentes aos carbapenêmicos, é um problema médico e de saúde pública crítico.^{1,2} Essa é considerada uma das resistências mais prevalentes em bactérias Gram-negativas causadoras de infecção hospitalar, que resulta em aumento de morbidade, mortalidade, tempo de internação e custos associados ao tratamento ao paciente.³ De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é de responsabilidade estadual e do sistema único de saúde (SUS) controlar, atribuir a vigilância e definir os critérios das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) no Brasil.⁴ São definidas como IRAS as infecções adquiridas, durante o processo de cuidado em um hospital ou outra unidade prestadora de assistência à saúde, que não estavam presentes na admissão do paciente nas primeiras 48 a 72 horas da internação.⁵

As carbapenemases hidrolisam os carbapenêmicos: meropenem, ertapenem, imipenem, além de serem capazes de inativar os outros agentes beta-lactâmicos, como cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos, exceto as metalo-beta-lactamases, que não degradam o monobactam, havendo, portanto muito poucas opções de tratamento restantes.^{6,7} Seguir a proliferação de bactérias resistentes aos antimicrobianos carbapenêmicos torna-se complicado devido à diversidade de enzimas hidrolisantes de carbapenêmicos que têm surgido e à capacidade de proliferação dos genes por várias espécies de bactérias.

Alguns dos genes de resistência, como os determinantes da *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) estão associados a linhagens clonais bem-sucedidas de bactérias (por ex., *K. pneumoniae* ST258),⁸ que têm vantagem seletiva em unidades hospitalares onde a utilização antimicrobiana é elevada. A enzima tipo KPC foi inicialmente descrita nesta espécie (que continua sendo a mais prevalente), mas atualmente disseminou-se por diferentes patógenos causadores de infecção hospitalar em diferentes sítios, como nasofaringe, trato intestinal, trato urinário, além de estarem associadas também a septicemia intra-hospitalar, pneumonias e infecção oportunista nosocomial, sendo seus principais alvos pacientes hospitalizados e imunodeprimidos.⁹ A enzima KPC apresenta falha terapêutica com multirresistência, e é considerada causadora de níveis endêmicos de infecções no Brasil.⁹ As oportunidades de transmissão de organismos são normalmente frequentes, com maior disseminação dos genes de resistência através de plasmídeos transmissíveis e *integrons*. A cepa *K. pneumoniae* ST258 tem provocado várias epidemias globais, especialmente nos Estados Unidos e em Israel.¹⁰ De forma semelhante, os organismos contendo o gene que codificam metalo-beta-lactamase Nova Deli (NDM) foram introduzidos na Europa por pessoas que, em muitos casos, visitaram a Índia ou o Paquistão.¹¹ Resistência aos carbapenêmicos, por intermédio da metalo-beta-lactamase Verona mediada por *integrons* (VIM), tem sido há vários anos uma preocupação na Europa.¹²

Metalo-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,^{6,13} principalmente em *P. aeruginosa*.¹² Além disso, a oxacilinase da classe D, OXA-48, produzida principalmente por *A. baumannii* que efetua frequentemente a mediação da resistência aos carbapenêmicos, proliferou-se rapidamente na Europa.¹⁴

Atualmente, o método padrão para detectar pacientes com colonização por organismos resistentes aos carbapenêmicos é a cultura de amostras de swabs retais e perirretais em placas de ágar seletivas Gram-negativas, como ágar MacConkey, seguida por testes de suscetibilidade antimicrobiana de colônias fermentadoras de lactose, ou a utilização de meios de ágar de rastreo seletivo.¹⁵ A identificação de KPC por meio de testes fenotípicos é uma das mais utilizadas pelos laboratórios, pois a metodologia é simples, de baixo custo e pode ser aplicada a qualquer rotina laboratorial.¹⁶ Para a identificação de KPC, existe um método baseado em discos de carbapenêmicos como substratos e ácido 3-aminofenil borônico como inibidor; no teste, se houver uma diferença de 5 mm entre o disco impregnado com o inibidor e o sem inibidor, a interpretação indica a presença desta carbapenemase.¹⁷ O primeiro método é trabalhoso e poderá exigir vários dias para gerar um resultado final, enquanto a última abordagem varia consideravelmente quanto a sensibilidade e especificidade, conforme o meio seletivo utilizado.

Seria uma ajuda significativa para os programas de controle de infecções, especialmente durante surtos, a aplicação de um método rápido e exato para determinar se uma amostra clínica ou um isolado bacteriano resistente aos carbapenêmicos é portador de uma destas três classes comuns de genes de resistência aos carbapenêmicos. Esse método rápido e exato poderia potencialmente: 1) identificar o gene específico de resistência presente no organismo; e 2) diferenciar aqueles organismos carreadores de genes de resistência aos carbapenêmicos que codificam enzimas carbapenemases devido a outras beta-lactamases e/ou alterações na parede celular e que não exigem necessariamente a colocação do paciente num ambiente com precauções de contato.

Os desafios terapêuticos associados às *Enterobacteriaceae* resistentes aos carbapenêmicos geraram a necessidade de rápida detecção 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 atividade diversificada contra bactérias produtoras de metalo-beta-lactamases. Outras opções terapêuticas para tratamento de bactérias produtoras de KPC devem averiguar a sensibilidade a drogas como aminoglicosídeo, tetraciclina, tigeciclina, polimixina, fluorquinolona e fosfomicina,¹⁸ sendo que algumas delas devem ser utilizadas em terapia combinada. No futuro, os médicos poderão selecionar antibióticos com base no tipo de gene de resistência aos carbapenêmicos presente.¹⁹

Os resultados do teste molecular, Xpert Carba-R (Cepheid), demonstram a presença de genes bla_{IMP} , bla_{VIM} e bla_{NDM} que codificam metalo-beta-lactamases em amostras retal e perirretal e em colônias puras dos organismos indicados, podendo ser úteis para determinar estratégias terapêuticas que incluam associações de beta-lactâmico/inibidor da betalactamase.²⁰

O sistema de instrumentos GeneXpert® automatiza e integra a preparação de amostras clínicas validadas (retal e perirretal) e amostras bacterianas, a extração e a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e um software pré-carregado para a execução de testes e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos descartáveis, de utilização única, que contenham os reagentes de PCR e onde ocorre o processo. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. O ensaio Xpert Carba-R inclui reagentes para a detecção de sequências de genes bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} (cobrindo $bla_{OXA-181}$ e $bla_{OXA-232}$) e bla_{IMP} , bem como um controle de processamento da amostra (SPC), que controla o processamento adequado da bactéria alvo e indica a presença de inibidor(es) na reação PCR. O SPC também assegura que as condições da reação PCR (temperatura e tempo) são apropriadas à reação de amplificação e que os reagentes da PCR estão funcionais. Um controle interno adicional, o controle 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 do ensaio Xpert Carba-R detectam sequências exclusivas relacionadas às sequências de genes bla_{KPC} (KPC), bla_{NDM} (NDM), bla_{VIM} (VIM), bla_{OXA-48} (OXA-48) e bla_{IMP} (IMP), associadas à não suscetibilidade aos carbapenêmicos em bactérias Gram-negativas. A identificação dos genes que codificam as enzimas carbapenemases corrobora a utilização de rastreo e notificações relatadas para a vigilância epidemiológica.²¹

O presente trabalho trata de um estudo prospectivo de precisão e rapidez, frente às apresentações e processamento em 48 minutos do teste molecular Xpert Carba-R para a detecção de carbapenemases em amostras clínicas. O objetivo deste estudo é comparar o teste Xpert Carba-R com a cultura bacteriana, metodologia tradicional mais morosa que leva dias para ser processada, além de ajudar significativamente o programa de controle de infecções hospitalares, especialmente durante surtos. Este trabalho pertence ao Programa de pesquisa em políticas públicas (processo FAPESP – 2020/16662-6) enquadrado no Plano de desenvolvimento dos institutos de pesquisa estaduais (processo FAPESP - 2017/50333-7), que tem a intenção de fortalecer e aprimorar a Rede de Laboratórios de Saúde Pública do Instituto Adolfo Lutz.

Metodologia

O estudo foi realizado em parceria entre o Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz de Santo André (IAL Santo André) e um hospital público da cidade de Mauá, São Paulo. A equipe de Mauá, neste estudo, é composta por profissionais de saúde da enfermagem e do laboratório de análises clínicas, que atendem ao hospital. A enfermagem ficou responsável pelas coletas das amostras clínicas, pelas coletas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinado pelo paciente ou responsável, e pelo encaminhamento das amostras clínicas coletadas ao laboratório do hospital, que processa a cultura, e ao IAL Santo André, que realiza o teste molecular Xpert Carba-R.

Comitê de ética em pesquisa

O estudo foi submetido à Plataforma Brasil, avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz, com emissão do Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CEP-IAL-CAAE: 41034720.5.0000.0059). Foi obtida a assinatura do TCLE de cada indivíduo participante do estudo, durante a admissão no hospital de Mauá. Os dados obtidos durante o estudo estão sob responsabilidade e autoria científica da equipe envolvida em sua execução. Os dados serão utilizados exclusivamente com finalidade científica para avaliação de um teste diagnóstico que permita reduzir o tempo de diagnóstico da resistência bacteriana aos carbapenêmicos em amostras específicas de uma população vulnerável. A confidencialidade das informações provenientes dos resultados de análises laboratoriais será assegurada por codificação.

Critério de Inclusão

Foram incluídos os pacientes que apresentaram uma das seguintes condições: 1) admitidos anteriormente em um serviço de saúde nos últimos três meses; 2) transferidos de outro serviço de saúde; 3) receptores de transplante de órgãos; 4) pacientes com câncer; 5) pacientes em hemodiálise; e 6) pacientes com história positiva de isolamento de um organismo multirresistente nos últimos seis meses.

Critério de Exclusão

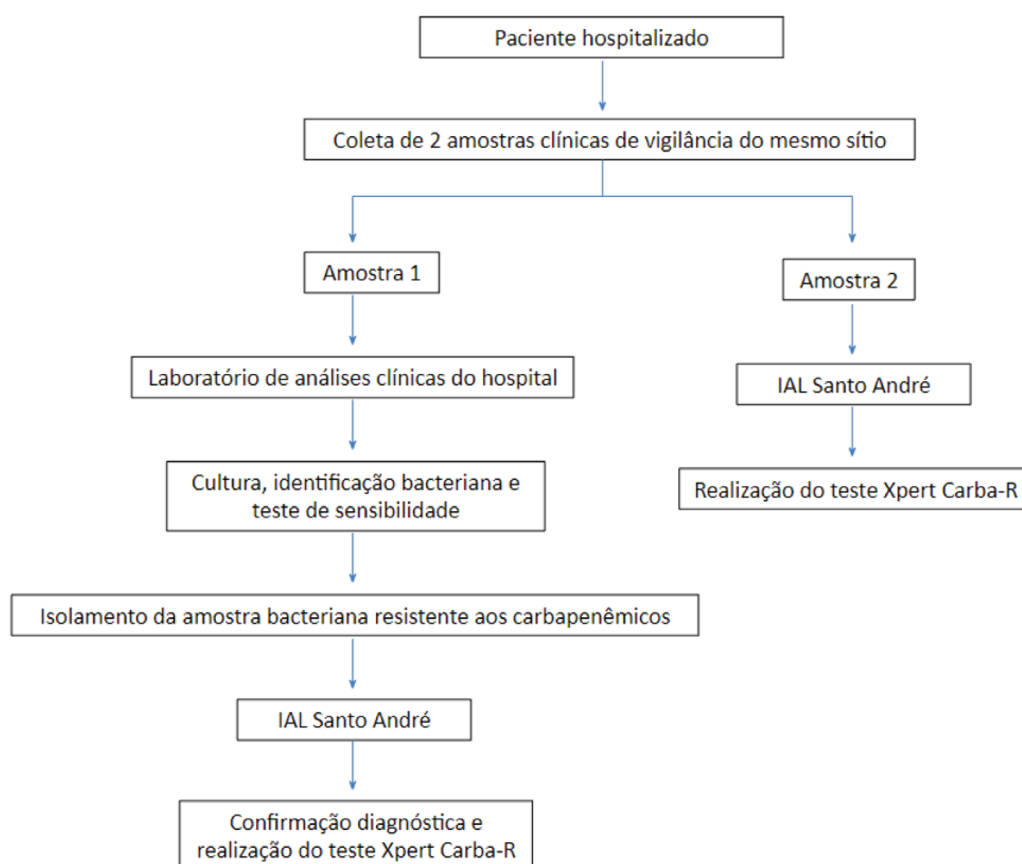
Os critérios de exclusão foram: 1) amostras para um dos testes obtidas com intervalo superior a 30 minutos; e 2) incapacidade de realizar a sequência completa de ações desde a amostragem até o processamento das amostras.

Coleta de amostras clínicas

As amostras clínicas foram colhidas de pacientes em admissão ou hospitalizados ($n = 155$), conforme os critérios médicos e do serviço de controle de infecção hospitalar (SCIH), e submetidas ao diagnóstico de infecção causada por bactérias resistentes aos carbapenêmicos no período de junho de 2023 a setembro de 2024.

Foram colhidos dois swabs retais, duas porções de urina ou duas porções de secreção pulmonar (amostra 1 e amostra 2) dos pacientes. Um dos swabs ou uma das porções foi encaminhado ao laboratório de análises clínicas para o processamento da cultura e teste de sensibilidade. Quando a cultura era positiva, as amostras bacterianas resistentes aos carbapenêmicos eram encaminhadas ao IAL Santo André para confirmação da resistência bacteriana. Foram realizados testes fenotípicos com inibidores de beta-lactamases em discos de ertapenem, imipenem e meropenem, e o processamento do teste Xpert Carba-R. Em paralelo, o IAL Santo André realizou o processamento do teste Xpert Carba-R, conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma das análises realizadas nas amostras clínicas de pacientes hospitalizados no município de Mauá, São Paulo, no período de junho de 2023 a setembro de 2024*.



Fonte: elaborada pelo autor.

*IAL Santo André, Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz de Santo André; Carba-R, resistência à carbapenemases.

Obtenção das amostras clínicas

Swabs de vigilância retal ou perirretal

A coleta de duas amostras clínicas do mesmo sítio (amostra 1 e amostra 2) foi realizada por profissional da saúde treinado, seguindo todas as instruções de biossegurança, inclusive o uso de equipamentos de proteção individual adequados para garantir as precauções padrão de contato. Basicamente, após o profissional de saúde orientar o paciente ou o responsável, a amostra clínica foi coletada com *swabs* que foram depositados em meio de transporte Stuart (Absorve/Citotest Labware) previamente identificados com os dados do paciente e a data de coleta. Foram processados dois *swabs*, ou seja, o primeiro *swab* foi para o processamento da cultura no laboratório de análises clínicas do hospital e o segundo *swab* foi depositado no tubo com meio de transporte que pode ser conservado entre 15°C e 28°C durante um período máximo de cinco dias, de modo que se realizasse o Xpert Carba-R no IAL Santo André.

Urina

Após o profissional de saúde orientar o paciente ou o responsável, foram colhidos no mínimo 60 mL de jato médio de urina em coletor universal estéril após assepsia, mantidos sob-refrigeração e encaminhados para o processamento da urocultura no laboratório de análises clínicas do hospital (amostra 1) e para o processamento do Xpert Carba-R no IAL Santo André (amostra 2).

Secreção pulmonar

Após o profissional de saúde orientar o paciente ou o responsável, foram colhidas as secreções no frasco próprio para aspirados pulmonares, mantidas sob refrigeração e encaminhadas para o processamento da cultura no laboratório de análises clínicas do hospital (amostra 1) e para o processamento do Xpert Carba-R no IAL Santo André (amostra 2).

Metodologia Laboratorial

GeneXpert Carba-R

Os genes que conferem resistência aos carbapenêmicos foram identificados com o kit Xpert® Carba-R para a detecção de cinco genes (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{IMP} e bla_{OXA-48})

no equipamento GeneXpert (Cepheid, EUA) em amostras clínicas validadas pelo fabricante como swabs retal e perirretal, e isolados bacterianos.

Cultura bacteriana

Foi realizada também a cultura bacteriana em placas de ágar cromogênico específico para o isolamento de bactérias resistentes aos carbapenêmicos. Observou-se o crescimento de colônias rosa escuras de *Escherichia coli*; azul metálicas de *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*; creme translúcidas de *Pseudomonas*; creme opacas de *Acinetobacter* (Probac do Brasil).

Testes fenotípicos

Foram realizados testes fenotípicos com inibidores de beta-lactamases (ácido fenilborônico (AFB) (40 mg/mL), cloxacilina (75 mg/mL) e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (0,1 M)) em discos de ertapenem, imipenem e meropenem. A leitura dos halos foi realizada em milímetros (mm). Os halos com diferença nos diâmetros ≥ 5 mm para discos suplementados ou não foram considerados acusadores da presença das carbapenemases.²²

Testes de suscetibilidade antimicrobiana

Foram realizados por difusão em disco para ertapenem, imipenem e meropenem,²³ conforme recomendado pelo Comitê Brasileiro para os Testes de Suscetibilidade de Antimicrobiana.²⁴

PCR multiplex

Foram realizadas PCRs multiplex para detecção de outros genes (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{IMP} , bla_{OXA-48} , bla_{SPM} , bla_{BKC} , $bla_{OXA-23-like}$ e $bla_{OXA-51-like}$) não detectados pelo GeneXpert.²⁵ Também foi feita a identificação de complexos clonais (CC) nos isolados de *A. baumannii* através da PCR multiplex, a qual foi padronizada pelo Instituto Adolfo Lutz Central, utilizando os controles positivos a seguir - *A. baumannii* - Complexo clonal 1 (cepa ST-1), CC-2 (cepa IC-2), C-15 (amostra ST-15), CC-79 (amostra ST-79) e CC-25 (amostra ST-25).²⁶⁻²⁸

Validação do teste Xpert Carba-R da urina e secreção pulmonar

Inicialmente foi realizado um estudo de sensibilidade analítica para dois tipos de matrizes - urina e secreção pulmonar (não validadas pelo fabricante do teste Xpert® Carba-R), utilizando-se os valores de limite de detecção (LoD) disponíveis na bula do teste

([Suplemento 1](#)). Em seguida, foram realizadas as validações das matrizes pretendidas seguindo protocolo sugerido pelo fabricante do teste Xpert® Carba-R ([Suplemento 2](#)). Cinco diferentes amostras bacterianas foram utilizadas como controles positivos carreadores de carbapenemases: *K. pneumoniae* (Schroeter) Trevisan-AA-1705™ (bla_{KPC}), *K. pneumoniae* (Schroeter) Trevisan-AA-2146™ (bla_{NDM}), *Pseudomonas putida* Group - 80/23 (bla_{VIM}), *P. aeruginosa* - 65/23 (bla_{IMP}) e *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* (Schroeter) Trevisan - BAA-2524 (bla_{OXA-48}) foram cedidas pelo pesquisador científico Dr. Carlos Henrique Camargo do Centro de Bacteriologia: Núcleo de Doenças Entéricas e Infecções por Patógenos Especiais do Instituto Adolfo Lutz Central. Por fim, amostras clínicas dos pacientes foram avaliadas pelo teste Xpert Carba-R no IAL Santo André e pelo método de cultura bacteriana no Laboratório Biomega.

Resultados e discussão

Foram incluídos 155 pacientes no estudo: 73 do sexo feminino e 82 do sexo masculino, com idades compreendidas entre os 21 e os 86 anos, admitidos em emergência médica (n = 1), clínica médica (n = 54), clínica cirúrgica (n = 1), unidade de cuidados intensivos (n = 98), sendo que a procedência de um paciente não foi informada. Foram realizados 163 testes: *swabs* retais de vigilância (n = 93), urina (n = 36), *swabs* retais de vigilância (n = 8) e urina (n = 8) combinados, e secreção pulmonar (n = 18) ([Tabela 1](#)). Quarenta e seis pacientes estavam sob antibioticoterapia e 25 não estavam tomando antibióticos no momento da coleta. Dos demais pacientes (n = 84) não havia informações sobre qualquer tratamento medicamentoso.

Tabela 1. Apresentação das características dos 155 pacientes em admissão ou hospitalizados submetidos ao diagnóstico de infecção hospitalar no período de junho de 2023 a setembro de 2024 em um hospital público no município de Mauá, São Paulo.

Características dos pacientes (n = 155)	Número de casos (%)
Feminino	73 (47,1)
Masculino	82 (52,9)
Faixa etária (anos)	21 a 86
Emergência	1 (0,6)
Clínica médica	54 (34,9)
Clínica cirúrgica	1 (0,6)
Unidade de Terapia Intensiva	98 (63,3)
Não informado	1 (0,6)
Sítios de coleta (n = 163)	Número de coleta (%)
Swab retal	93 (57,0)
Urina	36 (22,0)
Swab retal e urina do mesmo paciente	8 (5,0) e 8 (5,0)
Secreção pulmonar	18 (11,0)

Fonte: elaborada pelo autor - obtidos na pesquisa em políticas públicas (processo FAPESP – 2020/16662-6).

A cultura bacteriana, apesar de liberar os resultados em alguns dias, quando comparada ao teste Xpert Carba-R, que libera os resultados em apenas 48 minutos, é considerada padrão-ouro por ser possível isolar o agente causador da infecção para a realização de testes de sensibilidade a antimicrobianos e de testes epidemiológicos adicionais. No presente estudo a cultura detectou 51 bactérias resistentes aos carbapenêmicos. As amostras de *K. pneumoniae* (n = 24), *A. baumannii* (n = 19), *P. aeruginosa* (n = 7) e *Providencia rettgeri* (n = 1) foram analisadas para detecção de genes que codificam carbapenemases ([Tabela 2](#)).

Tabela 2. Detecção de carbapenemases nos 51 isolados bacterianos obtidos dos 155 pacientes em admissão ou hospitalizados submetidos ao diagnóstico de infecção hospitalar.

Isolados bacterianos (n = 51)	Xpert Carba-R (n)	Multiplex PCR e complexo clonal (CC) (n)
Acinetobacter baumannii (n = 19)	Não detectado (9)	<i>bla</i> _{OXA-23-like} , <i>bla</i> _{OXA-51-like} /CC-02 (9)
	Não detectado (2)	<i>bla</i> _{OXA-23-like} , <i>bla</i> _{OXA-51-like} /CC-inconclusivo (2)
	Não detectado	<i>bla</i> _{OXA-51-like} /CC-inconclusivo
	Não detectado	<i>bla</i> _{OXA-23-like} , <i>bla</i> _{OXA-51-like} /CC-15
	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{OXA-23-like} , <i>bla</i> _{OXA-51-like} /CC-1
	<i>bla</i> _{KPC} , <i>bla</i> _{NDM} , <i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{OXA-23-like} , <i>bla</i> _{OXA-51-like} /CC-1*
	<i>bla</i> _{IMP}	<i>bla</i> _{OXA-23-like} , <i>bla</i> _{OXA-51-like} /CC-inconclusivo
	<i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{OXA-23-like} , <i>bla</i> _{OXA-51-like} /CC-02
	<i>bla</i> _{KPC} (2)	Não realizado (2)
	<i>bla</i> _{KPC} (11); <i>bla</i> _{NDM} ; <i>bla</i> _{KPC} , <i>bla</i> _{NDM}	Não realizado (13)
Klebsiella pneumoniae (n = 24)	<i>bla</i> _{KPC} , <i>bla</i> _{NDM} , <i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{KPC} *
	Não detectado (10)	Não realizado (10)
Pseudomonas aeruginosa (n = 7)	<i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{VIM}
	<i>bla</i> _{KPC} , <i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{VIM}
	<i>bla</i> _{NDM}	Não realizado
	<i>bla</i> _{VIM}	Não realizado
	Não detectado (3)	Não realizado (3)
Providencia rettgeri (n = 1)	<i>bla</i> _{NDM}	Não realizado

Fonte: elaborada pelo autor - obtidos na pesquisa em políticas públicas (processo FAPESP – 2020/16662-6).

*Testes realizados com secreção pulmonar de um mesmo paciente que apresentou cultura positiva para *A. baumannii* e *K. pneumoniae*.

De acordo com os testes Xpert Carba-R, em 123 pacientes os testes não detectaram os genes de interesse, cujos resultados foram classificados como “não detectado”. Dos 123 pacientes que apresentaram resultado “não detectado” no ensaio Xpert Carba-R e nas culturas com crescimento de *A. baumannii*, 18 tiveram as respectivas características clonais identificadas ([Tabela 2](#)). A secreção pulmonar de um dos pacientes foi identificada pelo Xpert Carba-R como positiva para KPC, NDM e VIM, com crescimento de *A. baumannii* e *K. pneumoniae* na cultura, e apresentou $bla_{OXA-23-like}$, $bla_{OXA-51-like}/CC-1$ e bla_{KPC} , respectivamente no multiplex PCR ([Tabela 2](#)). A detecção de NDM e VIM no teste Xpert Carba-R não se confirmou nas reações multiplex PCR realizadas nas colônias bacterianas obtidas na cultura. Nesse caso se torna necessária uma nova coleta da secreção pulmonar para investigação, mas o paciente teve alta hospitalar na ocasião.

Os resultados registrados utilizando o instrumento GeneXpert são apresentados na [Figuras 2A-B-C](#). É importante ressaltar que as amostras clínicas de urina e secreção pulmonar foram processadas após a validação no equipamento seguindo o protocolo do fabricante e sempre comparando-se os resultados com a cultura bacteriana.

Grande parte das amostras de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos, isoladas na cultura, eram carreadoras de bla_{KPC} (12 das 24, 50%), detectado pelo ensaio Xpert Carba-R ([Tabela 2](#), [Figura 2A](#)) e, em duas amostras das 24 (4%) foi detectado mais de um tipo de carbapenemase, bla_{KPC}/bla_{NDM} e $bla_{KPC}/bla_{NDM}/bla_{VIM}$ ([Tabela 2](#), [Figuras 2B e 2C](#)). Em outros estudos, bla_{KPC} também foi prevalente e com boa concordância entre a cultura e o ensaio Xpert Carba-R realizados com swabs retais.^{9,19,29}

Uma vantagem adicional do ensaio Xpert Carba-R é a capacidade de detectar múltiplos genes de resistência.³⁰ Tenover e colaboradores³¹ demonstraram que a detecção de mais de um gene de β -lactamase em bacilos Gram-negativos multirresistentes não teve impacto nos resultados do Xpert Carba-R. No presente estudo, metade das amostras de *A. baumannii* apresentaram $bla_{OXA-23-like}$ e $bla_{OXA-51-like}$ e dez das 18 (55%) eram pertencentes ao complexo clonal-02. Segundo Jin e colaboradores,¹⁹ em amostras de *A. baumannii* produtoras de carbapenemases, $bla_{OXA-23-like}$, $bla_{OXA-24/40}$ e bla_{OXA-58} demonstram ser os principais mecanismos de resistência observados.

Outro estudo, realizado na Coreia do Sul, sugere que há necessidade de métodos urgentes e eficazes para reduzir a resistência aos carbapenêmicos em *A. baumannii* e que há predominância de bla_{OXA-23} em hospitais comunitários.³² Um total de 79 amostras de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos foi isolado de 26 hospitais brasileiros. Em relação às β -lactamases, bla_{OXA-23} foi frequentemente detectado em isolados CC1, CC15 e CC25 nesses hospitais.³³ Os resultados do estudo de Sakuma e colaboradores³⁴ indicam que cepas de *A. baumannii* altamente resistentes aos carbapenêmicos e/ou aminoglicosídeos

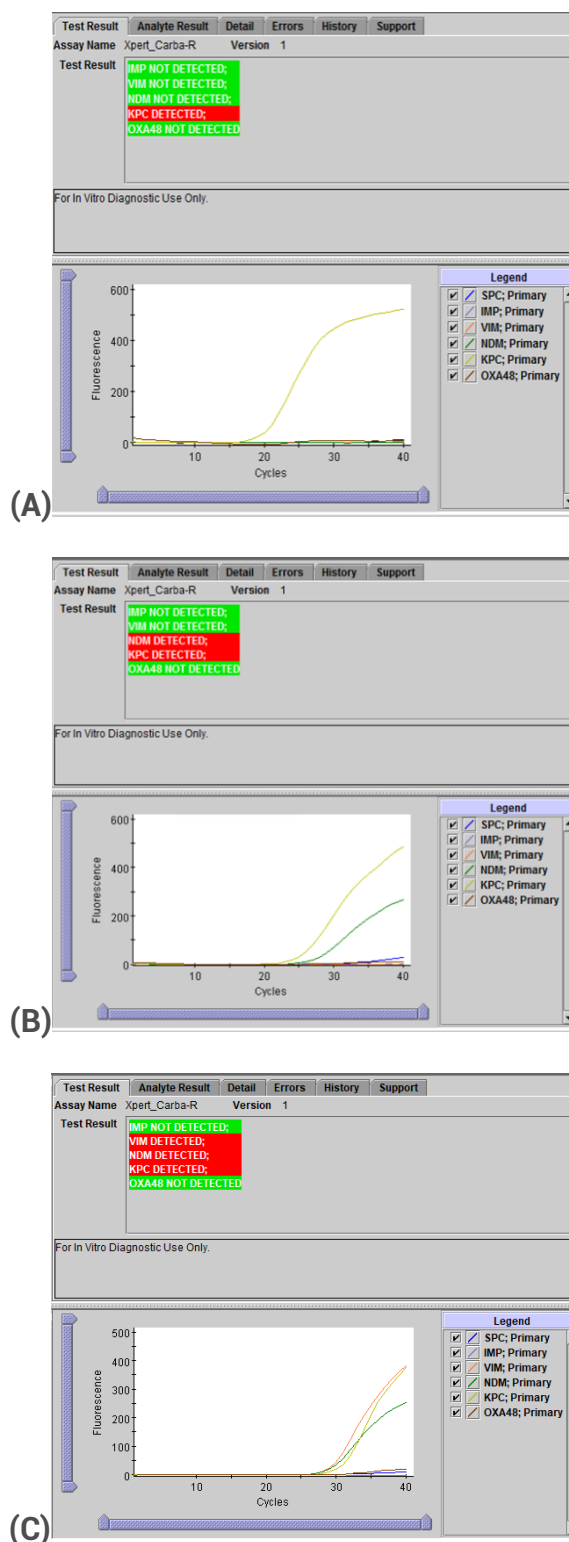
estão se espalhando em ambientes médicos no Nepal e sugere que clones CC1 e CC149 foram substituídos por CC2 ao longo de vários anos.

Quanto às sete amostras de *P. aeruginosa*, observamos uma predominância na detecção de bla_{VIM} (três entre as sete amostras, 43%), e bla_{VIM} e bla_{KPC} em uma delas (14%) ([Tabela 2](#)). Outro estudo conduzido no Brasil com o objetivo de avaliar o desempenho de testes fenotípicos para detecção de *Pseudomonas* spp. produtoras de carbapenemase identificou *P. aeruginosa* carreadoras com prevalência de bla_{VIM} e bla_{KPC} .³⁵ As cepas de *P. aeruginosa* produtoras de carbapenemase apresentam uma distribuição geográfica específica em relação ao tipo de gene codificador de carbapenemase que abrigam. Por mais de 20 anos, as enzimas do tipo VIM foram as únicas carbapenemases detectadas entre os isolados de *P. aeruginosa* na Grécia.³⁶ Na Espanha foram isoladas *P. aeruginosa* carreadores de bla_{VIM} sozinho ou em combinação com outras enzimas³⁷ ([Tabela 2](#)).

Neste estudo, foi detectada somente uma amostra de *P. rettgeri* carreadora de bla_{NDM} (2%), isolada de um paciente de 77 anos internado na unidade de terapia intensiva (UTI). Outro estudo conduzido na China também isolou amostras de *P. rettgeri* resistentes aos carbapenêmicos, principalmente de pacientes idosos, internados na UTI ou enfermarias cirúrgicas. Todas as cepas neste estudo carregavam *bla* intimamente relacionados, sugerindo a possibilidade de infecções nosocomiais³⁸ ([Tabela 2](#)).

Em relação às 89 culturas negativas, ou seja, culturas que não apresentaram crescimento bacteriano, 83 delas foram identificadas pelo teste Xpert Carba-R como "não detectado". Seis pacientes apresentaram resultados divergentes entre o teste Xpert Carba-R e a cultura bacteriana, porém são importantes para a tomada de decisões no controle da transmissão das infecções. Quatro dos seis pacientes apresentaram resultado negativo nas culturas e o teste molecular detectou bla_{KPC} e bla_{NDM} associados ou não a outras carbapenemases. Dois pacientes estavam sob a ação de antibiótico, um paciente não estava fazendo uso de antibiótico no momento da coleta e nos prontuários de outros três pacientes não constava essa informação. Podemos levantar algumas suposições como: a antibioticoterapia inibiu o crescimento bacteriano na cultura e o teste molecular detectou fragmento de DNA bacteriano; e a coleta do material clínico foi inadequada, ou seja, o swab usado na semeadura da cultura, por exemplo, estava sem ou com pouco material. Resultados discrepantes entre Xpert Carba-R e cultura também foram observados em outro estudo que analisou 127 swabs retais.²⁹ Em outro caso, uma dentre as culturas negativas foi identificada pelo teste Xpert Carba-R como "inválida", então foi solicitada nova coleta dos swabs. Resultados discrepantes entre metodologias podem ocorrer conforme descrito por Jin e colaboradores.²⁹

Figura 2. Resultados representativos do teste Xpert Carba-R, realizados no equipamento GeneXpert, com detecção de *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC) (A), metallo-beta-lactamase (NDM)/*K. pneumoniae* carbapenemase (KPC) (B) e *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC)/metallo-beta-lactamase (NDM)/metallo-beta-lactamase Verona mediada por integrons (VIM) (C).



Fonte: elaborada pelo autor.

Conforme relato da equipe do hospital de Mauá, a rapidez diagnóstica na detecção de amostra clínica ou isolado bacteriano carreador de uma das três classes comuns de genes de resistência aos carbapenêmicos ajudou significativamente o programa de controle de infecções do hospital, sempre associada ao controle de morbidade, mortalidade, tempo de internação e custos no tratamento do paciente. Isto se deve ao fato, principalmente, da rápida transferência do paciente para um ambiente com precaução de contato e à alta deste isolamento nos casos de não-detecção da presença de carbapenemases.

A rápida detecção de bactérias resistentes aos carbapenêmicos durante o exame de admissão auxiliou também nas atividades de controle de infecção em hospitais de Shanghai, China, como descritas no estudo de Zhou e colaboradores,³⁹ que mostrou a importância do teste Xpert Carba-R para conter a propagação de bactérias resistentes em áreas críticas das unidades de atendimento. Outro estudo concluiu que resultados positivos no teste Xpert Carba-R indicam que a vigilância Xpert Carba-R pode obter resultados mais rapidamente quando comparado à cultura, o que permite orientar a prevenção e o controle da infecção hospitalar.¹⁹

Conclusão

Com a avaliação dos dados obtidos foram extraídas informações sobre a factibilidade do uso de uma modalidade de teste que permite reduzir o tempo de diagnóstico através de um meio de identificação rápido e acurado de bactérias resistentes.

A detecção precoce de isolados bacterianos produtores de carbapenemases em 48 minutos no ambiente hospitalar, utilizando o teste Xpert Carba-R, serve de guia para planejamento de políticas públicas, tomada de decisões, controle de infecções, epidemiologia e vigilância. No entanto, a sua detecção está limitada a cinco genes; por isso, continua sendo necessário manter a realização de métodos fenotípicos padrão-ouro, que levam dias para serem processados, como a cultura e o antibiograma, a fim de evitar falsos negativos, e de testes genotípicos adicionais extremamente valiosos para estudos epidemiológicos complementares.

A abordagem é de grande relevância em saúde pública, pois possibilita o rápido isolamento de casos, o monitoramento de contato, o acompanhamento da evolução clínica dos pacientes antes mesmo de seu adoecimento, e o acesso aos tratamentos e terapias, contribuindo para a interrupção da cadeia de transmissão, o que pode representar uma importante economia para o sistema hospitalar, e ainda ajuda no direcionamento dos antibióticos a pacientes que terão maior chance de beneficiarem-se deles.

Referências

1. Kallen AJ, Srinivasan A. Current epidemiology of multidrug-resistant gram-negative bacilli in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010 Nov;31 Suppl 1:S51-4.
2. Bhowmik P, Modi B, Roy P, Chowdhury A. Strategies to combat Gram-negative bacterial resistance to conventional antibacterial drugs: a review. *Osong Public Health Res Perspect*. 2023 Oct;14(5):333-46.
3. Padoveze MC, Fortaleza CM. Healthcare-associated infections: challenges to public health in Brazil. *Rev Saude Publica*. 2014 Dec;48(6):995-1001.
4. BRASIL, ANVISA. Nota Técnica GVIMS/GGTES Nº 03/2019 Critérios Diagnósticos das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde. Brasil. 2019;p. 27.
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (PNPCIRAS) 2021 a 2025. Brasília: Anvisa, 2021.
6. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *Lancet Infect Dis*. 2011 May;11(5):381-93.
7. Gupta N, Angadi K, Jadhav S. Molecular Characterization of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* with Special Reference to Carbapenemases: A Systematic Review. *Infect Drug Resist*. 2022 Dec 22;15:7631-50.
8. Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, Srinivasan A, Navon-Venezia S, Carmeli Y, et al. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Aug;53(8):3365-70.
9. Cury AP, Almeida Junior JN, Costa SF, Salomão MC, Boszczowski Í, Duarte AJS, et al. Diagnostic performance of the Xpert Carba-R™ assay directly from rectal swabs for active surveillance of carbapenemase-producing organisms in the largest Brazilian University Hospital. *J Microbiol Methods*. 2020 Apr;171:105884.
10. Schwaber MJ, Lev B, Israeli A, Solter E, Smollan G, Rubinovitch B, et al. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis*. 2011 Apr 1;52(7):848-55.
11. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis*. 2010 Sep;10(9):597-602.
12. Hishinuma T, Uchida H, Tohya M, Shimojima M, Tada T, Kirikae T. Emergence and spread of VIM-type metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Japan. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020 Dec;23:265-8.
13. Kishi R, Nakano R, Nakano A, Harimoto T, Taniguchi R, Ando S, et al. Prevalence of carbapenem-resistant Enterobacterales with *bla*_{IMP-6} predominance in hospitals from 2018 to 2021 in Nara, Japan. *JAC Antimicrob Resist*. 2024 Aug 20;6(4):dlae135.
14. Pitout JDD, Peirano G, Kock MM, Strydom KA, Matsumura Y. The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases. *Clin Microbiol Rev*. 2019 Nov 13;33(1):e00102-19.

15. Grundmann H, Livermore DM, Giske CG, Canton R, Rossolini GM, Campos J, et al. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. Euro Surveill. 2010;15:1-13.
16. Birgy A, Bidet P, Genel N, Doit C, Decré D, Arlet G, et al. Phenotypic screening of carbapenemases and associated β -lactamases in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol. 2012; v. 50, n. 4, p. 1295-302.
17. Doi Y, Potoski BA, Adams-Haduch JM, Sidjabat HE, Pasculle AW, Paterson DL. Simple disk-based method for detection of *Klebsiella pneumonia* carbapenemase-type β -lactamase by use of a boronic acid compound. J Clin Microbiol., 2008; v. 46, n. 12, p. 4083-6.
18. Rotondo CM, Wright GD. Efficacy of aspergillomarasmine A/meropenem combinations with and without avibactam against bacterial strains producing multiple β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2024 Sep 4; 68(9):e0027224.
19. Zhou S, Mi S, Rao X, Zhang Q, Wei S, Xiao M, et al. Individualized active surveillance for carbapenem-resistant microorganisms using Xpert Carba-R in intensive care units. Sci Rep. 2023 Jun 12; 13(1):9527.
20. Navas M; Jacobs M. Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae - A review for laboratorians. American Association for Clinical Chemistry (AACC) Clin Lab News, 2016.
21. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Emerg Infect Dis. 2011; 17: 1791-8.
22. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). [NOTA TÉCNICA Nº 01 de 2013 – Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes/](#). Brasília (DF): ANVISA, 2013.
23. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966; 45: 493-6.
24. BrCAST – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - Tabelas de pontos de corte, instruções e outros documentos [Internet]. brcast.org.br. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>
25. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011 May; 70(1):119-23.
26. Martins N, Picão RC, Cerqueira-Alves M, Uehara A, Barbosa LC, Riley LW, et al. A new trilocus sequence-based multiplex-PCR to detect major *A. baumannii* clones. Infect Genet Evol. 2016 Aug; 42:41-5.
27. Vasconcellos FM, Tiba-Casas MR, Tavares LCB, Souza WV, Garcia DO, Camargo CH. Evaluation of a new tri locus sequence-based multiplex-PCR to detect major *A. baumannii* clonal complexes circulating in Brazil. Infect Genet Evol. 2017; 54:4-6.
28. Camargo CH, Yamada AY, Nagamori FO, de Souza AR, Tiba-Casas MR, de Moraes França FA, et al. Clonal spread of ArmA- and OXA-23-coproducing *Acinetobacter baumannii* International Clone 2 in Brazil during the first wave of the COVID-19 pandemic. J Med Microbiol. 2022 Apr;71(4).
29. Jin X, Zhang H, Wu S, Qin X, Jia P, Tenover FC, et al. Multicenter Evaluation of Xpert Carba-R Assay for Detection and Identification of the Carbapenemase Genes in Rectal Swabs and Clinical Isolates. J Mol Diagn. 2021; 23(1):111-9.

30. Mushtaq A, Albuquerque B, Chung M, Fabre S, Sullivan MJ, Nowak M, *et al.* Clinical, microbiological and genomic characterization of Gram-negative bacteria with dual carbapenemases as identified by rapid molecular testing. *JAC Antimicrob Resist.* 2023 Dec 30; 6(1):dlad137.
31. Tenover FC, Dela Cruz CM, Dewell S, Le VM, Tickler IA. Does the presence of multiple β -lactamases in Gram-negative bacilli impact the results of antimicrobial susceptibility tests and extended-spectrum β -lactamase and carbapenemase confirmation methods? *J Glob Antimicrob Resist.* 2020; 23:87-93.
32. Bae IK, Hong JS. The Distribution of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter* Species and High Prevalence of CC92 OXA-23-Producing *Acinetobacter Baumannii* in Community Hospitals in South Korea. *Infect Drug Resist.* 2024 Apr 29;17:1633-41.
33. Camargo CH, Cunha MPV, de Barcellos TAF, Bueno MS, Bertani AMJ, Dos Santos CA, *et al.* Genomic and phenotypic characterisation of antimicrobial resistance in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* hyperendemic clones CC1, CC15, CC79 and CC25. *Int J Antimicrob Agents.* 2020 Dec; 56(6):106195.
34. Sakuma M, Tohya M, Hishinuma T, Sherchand JB, Kirikae T, Tada T. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a hospital in Nepal. *J Glob Antimicrob Resist.* 2024 Sep; 38:363-7.
35. Santos ICO, Conceição Neto OC, Costa BS, Teixeira CBT, Pontes LS, Silveira MC, *et al.* Evaluation of phenotypic detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas* spp. from clinical isolates. *Braz J Microbiol.* 2023 Mar; 54(1):135-41.
36. Protonotariou E, Meletis G, Vlachodimou N, Malousi A, Tychala A, Katsanou C, *et al.* Rapid Reversal of Carbapenemase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* Epidemiology from bla_{VIM} - to bla_{NDM} -harbouring Isolates in a Greek Tertiary Care Hospital. *Antibiotics (Basel).* 2024 Aug 12;13(8):762.
37. Gracia-Ahufinger I, López-González L, Vasallo FJ, Galar A, Siller M, Pitart C, *et al.* The CARBA-MAP study: national mapping of carbapenemases in Spain (2014-2018). *Front Microbiol.* 2023 Sep 8; 14:1247804.
38. Liu M, Yi N, Wang X, Wang R. Analysis of resistance genes of carbapenem-resistant *Providencia rettgeri* using whole genome sequencing. *BMC Microbiol.* 2023 Oct 3; 23(1):283.
39. Zhou M, Kudinha T, Du B, Peng J, Ma X, Yang Y, *et al.* Active surveillance of carbapenemase-producing organisms (CPO) colonization with Xpert Carba-R assay plus positive patient isolation proves to be effective in CPO containment. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019; 9:162.

Contribuição dos autores

Maria Cecília Cergole-Novella, Akemi Oshiro Guirelli, Andréia Moreira dos Santos Carmo, Vilma dos Santos Menezes Gaiotto Daros, Ivana Barros de Campos e Jaqueline Maria Lima Gerbase contribuíram para a concepção, desenho, supervisão, redigiram e revisaram criticamente o manuscrito; Ana Carolina Cavalcante Tiburcio, Maria Edvania Ferreira Teodoro, Murilo Carlos Britto, Murillo Magalhães Rocha, Amanda Yaeko Yamada, Daniel de Sena Miranda, Bárbara Albares, Christiane Priscile Salvador, Maria Solange Duarte Soares e Ana Beatriz Nascimento Costa contribuíram para a investigação laboratorial, aquisição e interpretação de dados e revisaram criticamente o manuscrito; Alice Siniauskas e Carlos Henrique Camargo contribuíram para a supervisão, aquisição e interpretação de dados e revisaram criticamente o manuscrito. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Preprint

O manuscrito não foi previamente publicado em servidores preprint.

Aprovação dos autores

Os autores participaram efetivamente do trabalho, aprovam a versão final do manuscrito para publicação e assumem total responsabilidade por todos os seus aspectos, garantindo que as informações sejam precisas e confiáveis.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesse de natureza política, comercial e financeira no manuscrito.

Financiamento

Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) no Programa em Políticas Públicas (Processo 2020/16662-6) enquadrado ao Plano de Desenvolvimento dos Institutos de Pesquisa Estaduais (Processo 2017/50333-7).

Anexo 01 – Suplemento 2 - Protocolo de validação



REF **GXCARBAR-10**

 **Cepheid** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

IVD

301-2438-PT, Rev. G julho de 2020

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

Remel™ is a trademark of Remel.

BBL™ and Sensi-Disc™ are trademarks of Becton Dickinson.

Windows® 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 2020. All rights reserved.

Declarações relativas a marcas registradas, patentes e copyright

Cepheid®, o logótipo da Cepheid, GeneXpert® e Xpert® são marcas registradas da Cepheid.

Remel™ é uma marca comercial da Remel.

BBL™ e Sensi-Disc™ são marcas comerciais da Becton Dickinson.

Windows® é uma marca comercial da Microsoft Corporation.

AA 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 AA AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

Copyright © Cepheid 2020. Todos os direitos reservados.



Cepheid

904 Caribbean Drive

Sunnyvale, CA 94089

USA

Phone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192

Xpert® Carba-R

Rx only

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1 Nome proprietário

Xpert® Carba-R

2 Nome comum ou usual

Ensaio Xpert Carba-R

3 Utilização prevista do dispositivo

O ensaio Xpert Carba-R, realizado no Sistema do instrumento GeneXpert®, é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo destinado a detecção e diferenciação das sequências genéticas *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e *bla*_{IMP} 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 controle da infecção na detecção 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:

Colônias puras

O ensaio é efetuado com colônias puras de *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* ou *Pseudomonas aeruginosa* não-suscetíveis a carbapenemos, quando cultivadas em ágar sangue ou ágar MacConkey. Para testes de colônias 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*_{IMP}, *bla*_{NDM} ou *bla*_{VIM} para uma metalo-beta-lactamase (ou seja, os genes que codificam as metalo-beta-lactamases IMP, NDM e VIM, respectivamente) pode ser utilizada como um auxiliar para os médicos para a determinação de estratégias terapêuticas apropriadas para pacientes com infecções 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 infecções bacterianas não suscetíveis a carbapenemos ou a determinar se se trata de uma infecção bacteriana não suscetível a carbapenemos.

Xpert® Carba-R

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.^{1,2} 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.³ 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),⁴ 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 Unidos¹ e em Israel.⁵ 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.⁶ 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.³ 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.^{7,8} 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.⁹ 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 metalo-beta-lactamases. Os resultados do ensaio Xpert Carba-R que demonstrem a presença de genes *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}* e *bla_{NDM}* que codificam metalo-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.^{10,11,12,13,14}

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_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* e *bla_{IMP}*, 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_{KPC}* (KPC), *bla_{NDM}* (NDM), *bla_{VIM}* (VIM), *bla_{OXA-48}* (OXA-48) e *bla_{IMP}* (IMP) associadas à não suscetibilidade a carbapenemos em bactérias Gram-negativas.

Xpert® Carba-R

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



O kit do ensaio Xpert Carba-R contém reagentes suficientes para processar 10 amostras. O kit contém o seguinte:

Cartuchos do ensaio Xpert Carba-R com tubos de reação integrados	10
• Esfera 1, Esfera 2, e Esfera 3 (secagem por congelamento)	1 de cada por cartucho
• Reagente 1	3 ml por cartucho
• Reagente 2 (cloreto de guanidina)	2,5 ml por cartucho
Frascos de reagente de amostra do ensaio Xpert Carba-R	10
• Reagente de amostra	5,0 ml por cartucho
Pipetas de transferência descartáveis (1,7 ml)	10
CD	1
• 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.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

Nota A soroalbumina 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-mórtem. 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
- Agar sangue (por ex., Remel™ Blood Agar: número de catálogo R01200 ou equivalente)
- Agar 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



Xpert® Carba-R

- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contate a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.


6.4 Materiais disponíveis mas não fornecidos

- Controlo externo multivalente:
Painel de controlo de qualidade Xpert Carba-R M219, número de catálogo M219 da Maine Molecular Quality Controls, Inc. (MMQCI, Scarborough, ME, EUA), como controlo positivo externo (*Escherichia coli* inativada transportando plasmídeo com sequências de genes KPC, NDM, VIM, IMP e OXA-48) e controlo negativo externo (*E. coli* inativada).
- Controlos externos individuais:
Bactéria *K. pneumoniae* produtora de carbapenemase KPC-2 (número de catálogo ATCC BAA-1705); *K. pneumoniae* NDM-1 (número de catálogo ATCC BAA-2146); *K. pneumoniae* VIM-1 (número de catálogo NCTC 13439); *K. pneumoniae* OXA-48 (número de catálogo NCTC 13442); e *Escherichia coli* IMP-1 (número de catálogo NCTC 13476) como controlos positivos externos.

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^{15, 16} dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.¹⁷
- 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.
-  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^{18, 19}

- 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.

15 28
c



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

Xpert® Carba-R



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

Isolados bacterianos:

- 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 M100²⁰ do CLSI antes da realização de testes no ensaio Xpert Carba-R.
- Contamine uma placa de ágar sangue ou MacConkey com o organismo, cultive em riscas para isolamento e coloque um disco de 10 µg de meropenem no primeiro quadrante de riscas, para garantir que o isolado retém a sua não suscetibilidade a carbapenemos.
- Incube a placa a 35 °C durante 18–24 horas à temperatura ambiente.
- Utilize o método direto de suspensão de colônias, tocando nas colônias isoladas com uma zaragatoa ou ansa para preparar uma suspensão de McFarland 0,5 do isolado bacteriano conforme descrito na norma aprovada pelo CLSI M07.²¹ Os passos também são descritos abaixo.
 - Produza uma suspensão das colônias 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.
 - Ajuste a suspensão para atingir uma turvação equivalente ao padrão de McFarland 0,5. Isto produz uma suspensão com aproximadamente 1×10^8 UFC/ml para *E. coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922.
 - 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

Importante	Coloque o cartucho no instrumento GeneXpert no período de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.
	<ol style="list-style-type: none"> 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. Para adicionar a amostra ao cartucho: <ul style="list-style-type: none"> Para amostras de zaragatoa retal ou peri-retal, para adicionar a amostra de zaragatoa ao cartucho: <ul style="list-style-type: none"> Para zaragoas emparelhadas, coloque uma zaragatoa no frasco de reagente de amostra. Coloque novamente a zaragatoa não utilizada no tubo para transporte e conserve.
Nota	Consulte a Seção 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.

Xpert® Carba-R

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.

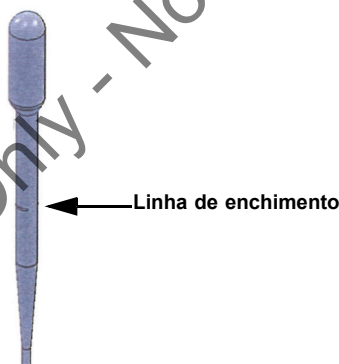


Figura 3. Pipeta de transferência para transferir amostra para o cartucho

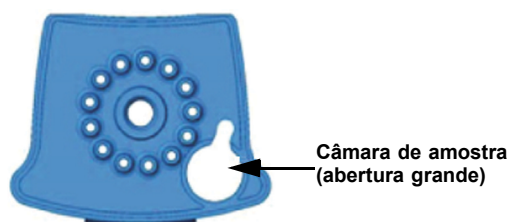


Figura 4. Cartucho do ensaio Xpert Carba-R (vista superior)

Xpert® Carba-R

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.

- 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.
- Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
- 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).
- 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).
- 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).
- 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: Selecionar ensaio (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota

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

- Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe se lhe for solicitada.
- 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:
 - Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
 - Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz verde desliga-se.
 - Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo. De seguida, remova o cartucho.
 - 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)*.

- Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
- 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 Controle de qualidade

CONTROL Controles de qualidade integrados

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

- **Controle 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 controle detecta 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.
- **Controle 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.

Controles externos

Os controles externos descritos na Secção 6.4 estão disponíveis, mas não são fornecidos e podem ser utilizados em conformidade com as organizações de acreditação locais, estaduais e federais, consoante aplicável. Utilize sempre os controles externos de acordo com as instruções do fabricante.

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
IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM NÃO DETECTADO (VIM NOT DETECTED); NDM NÃO DETECTADO (NDM NOT DETECTED); KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NÃO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED) Consulte a Figura 5.	A sequência do ADN-alvo de IMP é detetada; as sequências do ADN-alvo de VIM, NDM, KPC e OXA-48 não são detetadas. <ul style="list-style-type: none"> • 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. • SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque a amplificação do ADN-alvo de IMP pode interferir com este controlo. • PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. • 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>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} e <i>bla</i>_{NDM} 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.

Xpert[ ] Carba-R

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

Resultado	Interpretação
IMP NÃO DETECTADO (IMP NOT DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM NÃO DETECTADO (NDM NOT DETECTED); KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NÃO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED) Consulte a Figura 6.	A sequência do ADN-alvo de VIM é detectada; as sequências do ADN-alvo de IMP, NDM, KPC e OXA-48 não são detectadas. <ul style="list-style-type: none"> 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 � definição limite; as sequências do ADN-alvo de IMP, NDM, KPC e OXA-48 estão ausentes ou são inferiores ao nível de detecção do ensaio. SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque a amplificação do ADN-alvo de VIM pode interferir com este controle. PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. As estratégicas 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>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} e <i>bla</i>_{NDM} que codificam metalo-beta-lactamase em col�nias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infecções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.
IMP NÃO DETECTADO (IMP NOT DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM DETECTADO (NDM DETECTED); KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NÃO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED) Consulte a Figura 7.	As sequências do ADN-alvo de VIM e NDM são detectadas; as sequências do ADN-alvo de IMP, KPC e OXA-48 não são detectadas. <ul style="list-style-type: none"> 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 detecção do ensaio. SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque as amplificações do ADN-alvo de VIM e NDM podem interferir com este controle. PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. As estratégicas 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>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} e <i>bla</i>_{NDM} que codificam metalo-beta-lactamase em col�nias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infecções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.
IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM NÃO DETECTADO (VIM NOT DETECTED); NDM DETECTADO (NDM DETECTED); KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NÃO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED) Consulte a Figura 8.	As sequências do ADN-alvo de IMP e NDM são detectadas; as sequências do ADN-alvo de VIM, KPC e OXA-48 não são detectadas. <ul style="list-style-type: none"> 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 detecção do ensaio. SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque as amplificações do ADN-alvo de IMP e NDM podem interferir com este controle. PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. As estratégicas 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>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} e <i>bla</i>_{NDM} que codificam metalo-beta-lactamase em col�nias puras dos organismos indicados podem ser úteis para determinar uma estratégia terapêutica em pacientes com infecções bacterianas conhecidas ou suspeitas não suscetíveis a carbapenemos.

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

Resultado	Interpretação
IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM NÃO DETECTADO (NDM NOT DETECTED); KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 DETECTADO (OXA48 DETECTED) Consulte a Figura 9.	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. <ul style="list-style-type: none"> 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 detecção do ensaio. SPC: Não aplicável. O SPC é ignorado porque as amplificações do ADN-alvo de IMP, VIM e OXA-48 podem interferir com este controlo. PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. 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>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} e <i>bla</i>_{NDM} 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.
IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM DETECTADO (NDM DETECTED); KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 DETECTADO (OXA48 DETECTED) Consulte a Figura 10.	As sequências do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM e OXA-48 são detetadas; a sequência do ADN-alvo de KPC não é detetada. <ul style="list-style-type: none"> 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 detecção do ensaio. 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. PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. 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>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} e <i>bla</i>_{NDM} 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.
IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM DETECTADO (NDM DETECTED); KPC DETECTADO (KPC DETECTED); OXA48 DETECTADO (OXA48 DETECTED) 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"> 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. 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. PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados. 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>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} e <i>bla</i>_{NDM} 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.

Xpert® Carba-R

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

Resultado	Interpretação
IMP NÃO DETECTADO (IMP NOT DETECTED); VIM NÃO DETECTADO (VIM NOT DETECTED); NDM NÃO DETECTADO (NDM NOT DETECTED); KPC NÃO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NÃO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED) 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"> As sequências do ADN-alvo de IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 estão ausentes ou são inferiores ao nível de detecção do ensaio. 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. PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
INVÁLIDO (INVALID) 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"> 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. PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
ERRO (ERROR)	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"> SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) 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. * Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.
SEM RESULTADO (NO RESULT)	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"> SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) PCC: Não aplicável

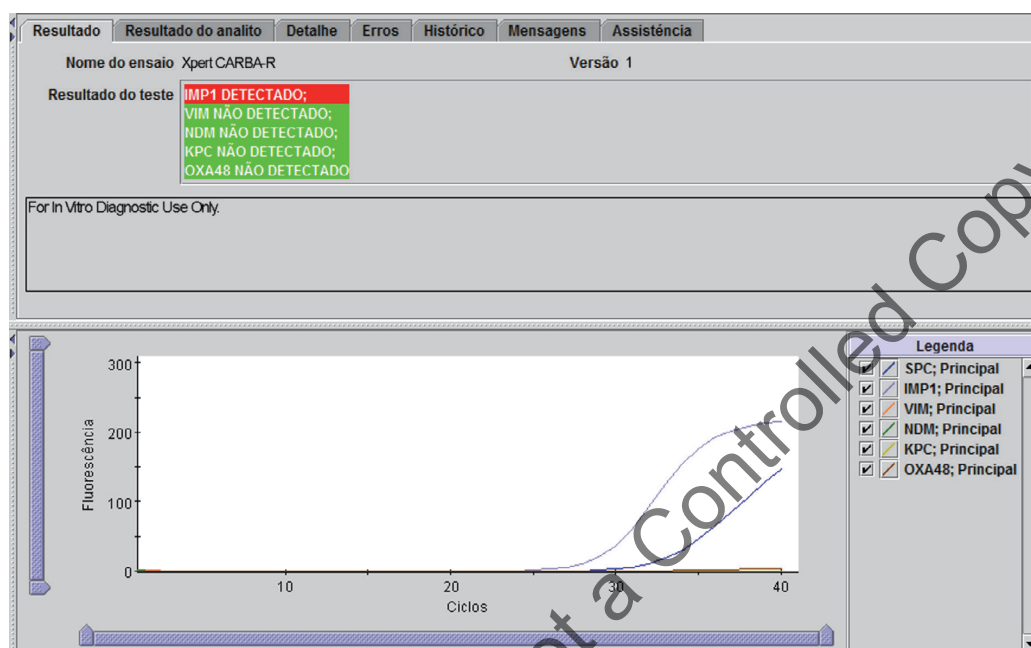


Figura 5. Ensaio Carba-R – IMP Detectado

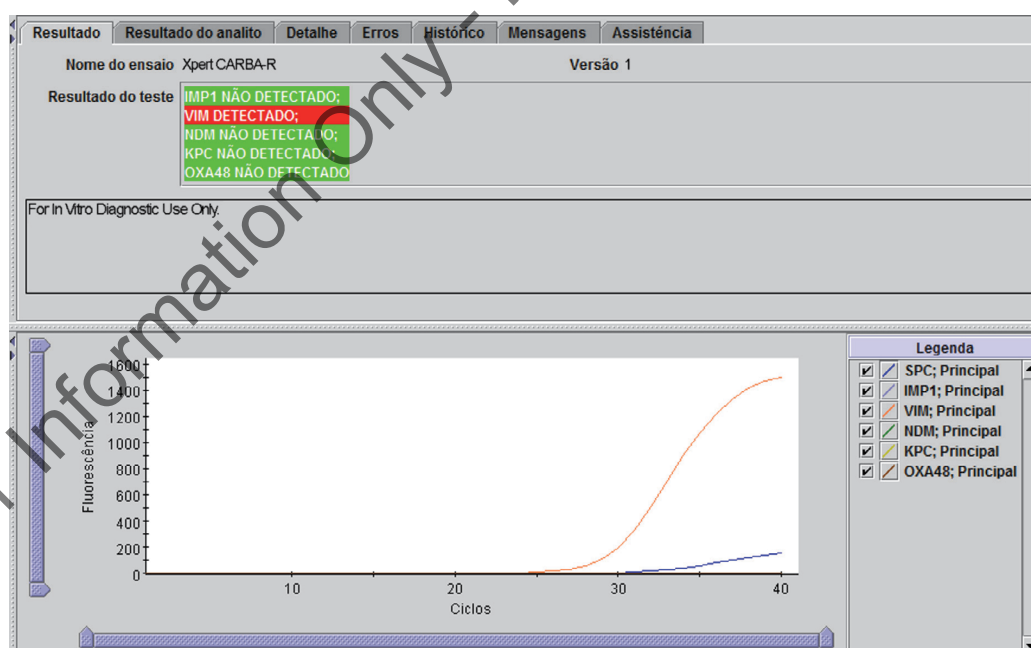


Figura 6. Ensaio Carba-R – VIM Detectado

Xpert  Carba-R

Nota Não são apresentados exemplos de NDM positivo, KPC positivo e OXA48 positivo.



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

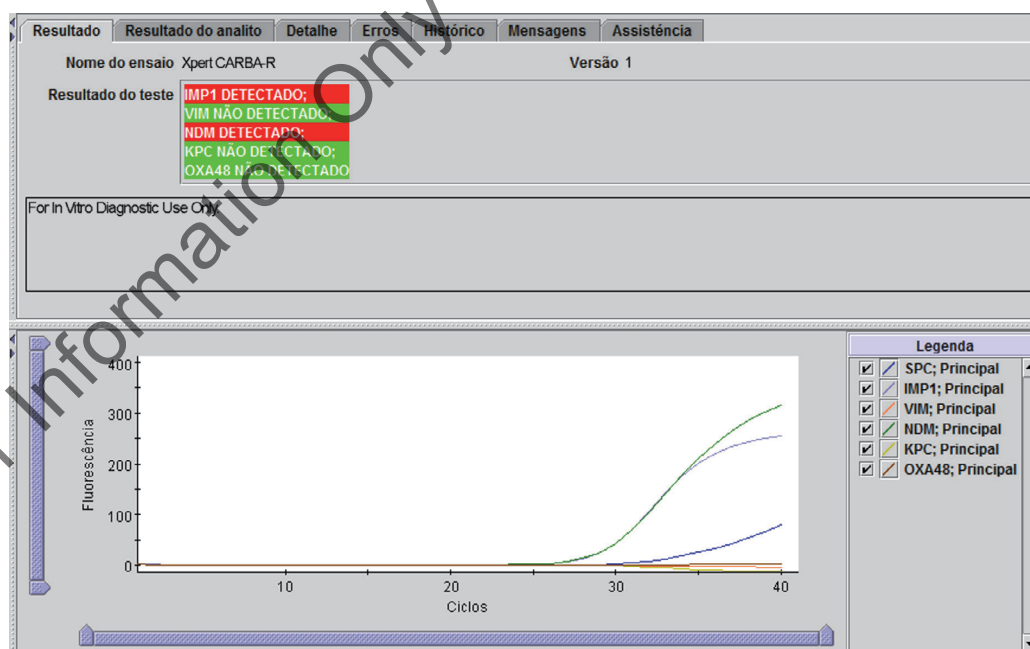


Figura 8. Ensaio Carba-R – IMP e NDM Detectado



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

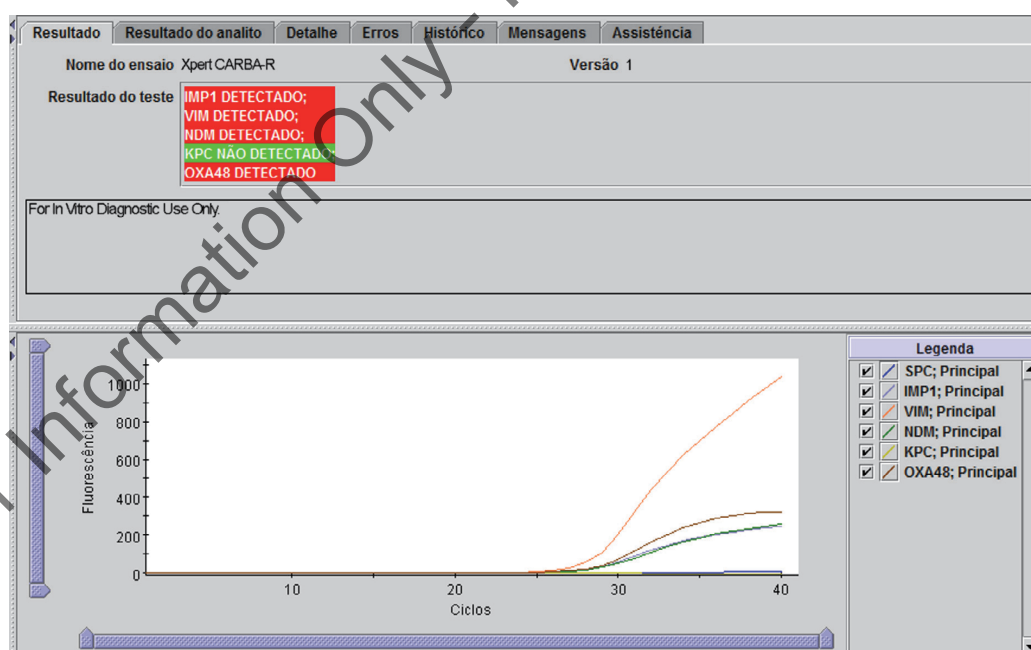


Figura 10. Ensaio Carba-R – IMP, VIM, NDM e OXA-48 Detectado

Xpert® Carba-R



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

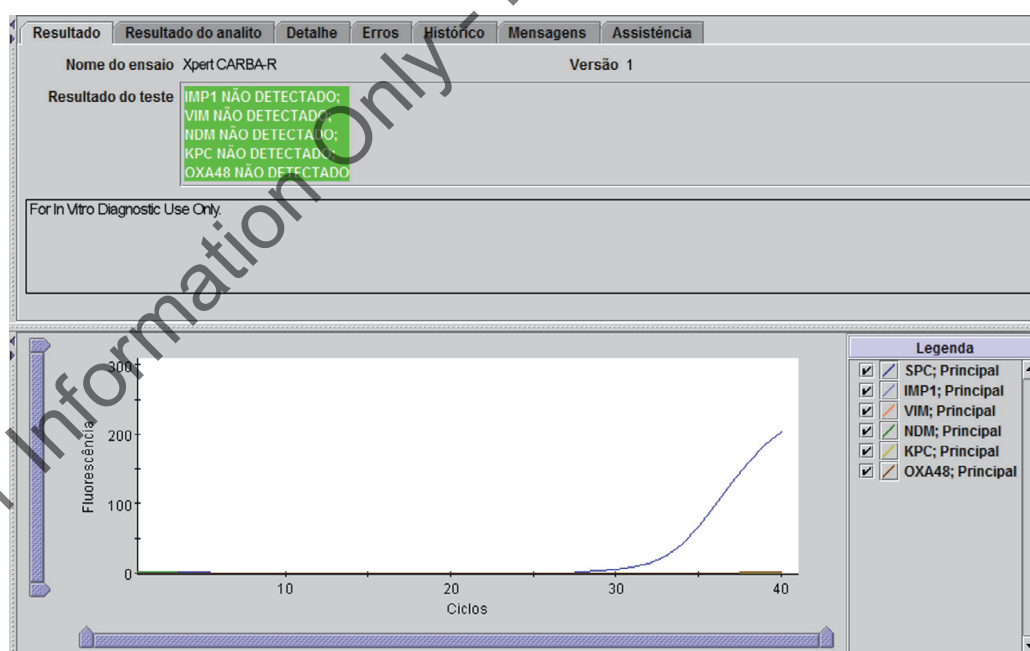


Figura 12. Ensaio Carba-R – IMP, VIM, NDM, KPC e OXA-48 Não Detectado

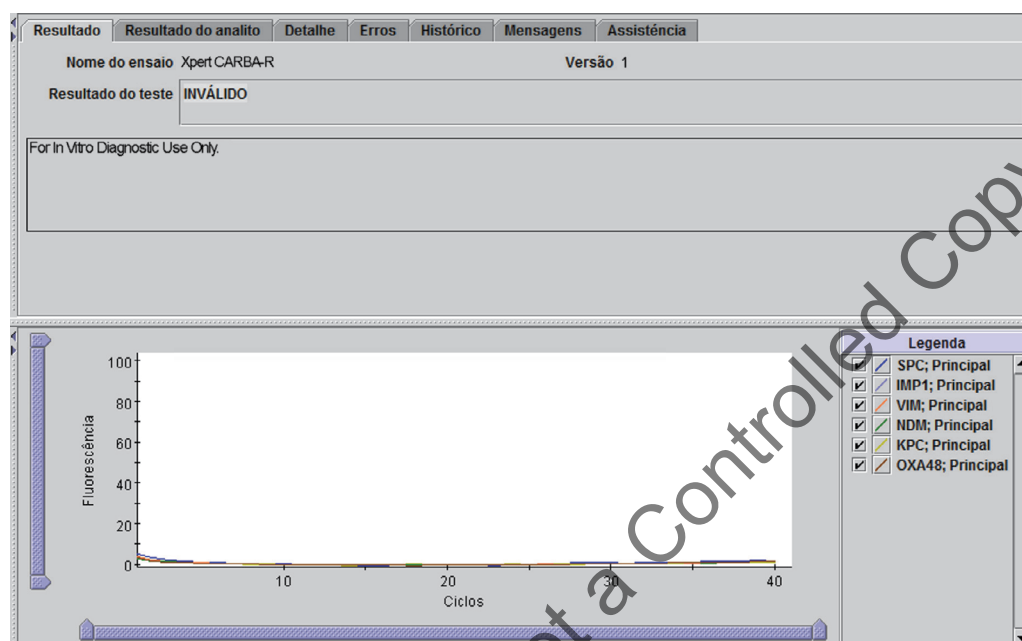


Figura 13. Ensaio Carba-R – Inválido

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 Seção 14, Procedimento de repetição do teste.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o controle 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 controle de verificação da sonda falhou e que o ensaio foi abortado, possivelmente devido ao tubo de reação não ter sido adequadamente enchido, à detecção 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 controle externo não for o esperado, repita o teste de controle 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 Seção 10.2, Iniciar o teste.

Xpert® Carba-R

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*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e *bla*_{IMP} de amostras de zaragatoa retal e peri-retal e de colónias puras, não se destinando à identificação de bactérias. A detecção 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*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC} ou *bla*_{OXA-48}.
- 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 detecção de outros genes de OXA-carbapenemase para além de *bla*_{OXA-48} e *bla*_{OXA-181}.
- 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 detecção de variantes atuais, novas ou desconhecidas de *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e *bla*_{IMP}, 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*_{SPM}, *bla*_{SME} e *bla*_{IMI}.
- Dado que a detecção das sequências de genes *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e *bla*_{IMP} 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 zaragatoa retal ou peri-retal provenientes de pacientes pediátricos.
- Estudos analíticos utilizando associações de duas populações bacterianas em amostras de zaragatoas 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 5×10^6 UFC/zaragatoa, o alvo com concentração baixa pode não ser detectado. 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 detecção de um segundo alvo deve ter um impacto mínimo no controle 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 detecção da sequência genética *bla*_{VIM} 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*_{VIM} 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 detecção da sequência genética *bla*_{IMP} 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*_{IMP}.
- Os anaeróbios resistentes a carbapenemos potencialmente presentes em amostras fecais não foram avaliados pelo ensaio Xpert Carba-R.
- A detecção de *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e/ou *bla*_{IMP} 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*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e/ou *bla*_{IMP} 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 detectado 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.

Xpert® Carba-R

17 Características do desempenho

17.1 Desempenho clínico - Amostras de zaragatoa retal e peri-retal

As características do desempenho do ensaio Xpert Carba-R com amostras de zaragatoa 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 zaragatoa retal ou peri-retal emparelhadas de participantes hospitalizados ou numa instituição de cuidados prolongados. As amostras de zaragatoa 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 zaragatoa do par foi utilizada para testes com o ensaio Xpert Carba-R. A segunda zaragatoa 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 M100²⁰ do CLSI). O ADN extraído dos isolados não suscetíveis a carbapenemos foi purificado, quantificado e amplificado usando iniciadores específicos para todos os 5 genes-alvos; 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 banda 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 zaragatoa 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 zaragatoa 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 zaragatoa 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 zaragatoa 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 zaragatoa 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 prospectivas

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

Xpert® Carba-R

O desempenho do ensaio Xpert Carba-R em amostras retais e peri-retais prospectivas 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 prospectivas

Espécies ^a	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)

Xpert® Carba-R

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

Espécies ^a	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.

Xpert® Carba-R

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

Tabela 4. Amostras prospectivas 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) ^a	NEGAT. (NEG) ^a
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) ^a	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 zaragoas 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 prospectivamente 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 susceptibilidade 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 susceptibilidade aos carbapenemos 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.

Xpert® Carba-R

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 ^a	4 ^b	22 ^c
	Negat.	1 ^c	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 carbapenemases 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-S24.²² 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-S24.²² 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 inseridos 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 inseridos 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-A9.²³

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).

Xpert® Carba-R

Se as bandas mostradas no Bioanalyzer correspondiam ao tamanho esperado para o produto da amplificação de qualquer um dos cinco genes-alvos detectados 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 banda 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 detectados 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 detectados

Isolado	Tipo de ágar ^a	Alvos detectados pelo ensaio Xpert Carba-R	Alvos detectados 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 ^a	2 ^a	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).

Xpert® Carba-R

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 ^a	426	0	100% (91,2-100)	99,8% (98,7-100)
VIM	467	82	1 ^b	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 ^c	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)

- a. 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.
- b. Resultados discrepantes dos testes: 1 de 1 foi positivo para VIM.
- c. 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 ^a	3	100	0	100% (99,0-100)	97,1% (91,8-99,0)

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

Xpert® Carba-R

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 ^a	426	0	100% (91,2-100)	99,8% (98,7-100)
VIM	467	82	1 ^b	384	0	100% (95,5-100)	99,7% (98,5-100)
NDM	467	78	1 ^c	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)

- a. 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.
- b. Resultados discrepantes dos testes: 1 de 1 foi positivo para VIM.
- c. 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.

Xpert® Carba-R

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%)
Ágar sangue	<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 ^a	1 ^a	51	0	100% (98,7-100)	98,1% (89,9-99,7)
	<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)

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 ^a	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.

Xpert® Carba-R

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 (água sangue) vs. fenótipo — combinado

Xpert Carba-R	Resultados fenotípicos		
		Não suscetível	Suscetível
	Gene detetado	356	10
	Gene não detetado	95	6
Total		451	16
		467	

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

Xpert Carba-R	Resultados fenotípicos		
		Não suscetível	Suscetível
	Gene detetado	357	10 ^a
	Gene não detetado	94 ^b	6
Total		451	16
		467	

- a. Os 10 isolados que são fenotipicamente 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.
- b. Os 94 isolados que são fenotipicamente 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 água), 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 detecção) - Zaragatoas retais e peri-retais

A sensibilidade analítica ou limite de detecção (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.

Xpert® Carba-R

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

Xpert® Carba-R

18.2 Reatividade analítica (Inclusividade)

18.2.1 Estudo das matrizes de zaragatoas retais e peri-retais

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

Para os testes em matrizes de zaragatoas retais e peri-retais, os organismos foram semeados numa matriz de zaragatoas retais negativas agrupadas ou numa matriz de zaragatoas peri-retais negativas agrupadas. Todas as estirpes bacterianas foram testadas em triplicado para ambas as matrizes de zaragatoas. 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 zaragatoa retal e peri-retal

ID da estirpe	Organismo	Marcador de resistência com informação da variante	Concentração testada nas matrizes de zaragatoas 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
164-8	<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> ^a	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

Xpert® Carba-R

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> ^a	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 ^{b,c}	1,00E+06
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^c	1,00E+06
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{b,c}	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*_{KPC} (KPC), 13 *bla*_{NDM} (NDM), 11 *bla*_{VIM} (VIM), 8 *bla*_{OXA-48} (OXA-48), 5 *bla*_{NDM/bla}_{OXA-181} (NDM/OXA-181), 5 *bla*_{OXA-181} (OXA-181), 17 *bla*_{IMP} (IMP) e uma *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (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
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1

Xpert® Carba-R

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

ID da estirpe	Organismo	Marcador de resistência com informação da variante
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
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2
G029	<i>Salmonella spp.</i>	IMP-4

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

ID da estirpe	Organismo	Marcador de resistência com informação da variante
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 ^{a,b}
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^a
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{a,b}

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

As variantes detectadas e as previsões para a detecção 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 detectadas através de testes em meios húmidos ou com detecção prevista segundo a análise *in silico*

Marcador (ou subgrupo tradicional)	Testes em meios húmidos			Não testado mas com detecção 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 ^a , 13 ^b , 14 ^a	IMP-3, 8, 9, 13 ^b , 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 detectados pelo ensaio e também não tinha sido previsto pela análise *in silico* que seriam detectados (consulte a Seção 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 Seção 15, Limitações).

Xpert® Carba-R

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 zaragatoa retal e de matriz de zaragatoa peri-retal, 62 estirpes foram testadas a concentrações $> 1 \times 10^6$ UFC/ml, excetuando o *Peptostreptococcus anaerobius* que foi testado a 5×10^5 UFC/ml. Os vírus foram testados a $> 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml ou superior a $2,5 \times 10^7$ cópias de ARN/ml. Uma linha celular da bexiga (ADN genômico humano) foi testada a 1×10^5 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 colônias 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
Suscetível	19	30	24
Intermédio	0	8	4
Resistente	43	24	34

Tabela 21. Painel de reatividade cruzada

Organismo	ID da estirpe	Mecanismos de resistência confirmados	Suscetibilidade a carbapenemos (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<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
<i>Shigella flexnerii</i>	3331	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) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<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-THA114	VEB-1, TEM	S	S	S
<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

Xpert® Carba-R
301-2438-PT, Rev. G julho de 2020

41

Xpert® Carba-R

Tabela 21. Painel de reatividade cruzada (Continuação)

Organismo	ID da estirpe	Mecanismos de resistência confirmados	Suscetibilidade a carbapenemos (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<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/Intermediário/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> ^a	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
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

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

ID da estirpe	Organismo	Concentração testada (UFC/ml, salvo especificação em contrário)
ATCC 49037	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	5,00E+05
CCUG 29780 / ATCC 12401	<i>Streptococcus agalactiae</i>	5,21E+06
ATCC 15703	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ^a	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> ^a	3,27E+06
MRVP/ZeptoMetrix	Adenovírus B tipo 7A/NY ^a	1,40E+05 TCID ₅₀ /ml
MRVP/ZeptoMetrix	Enterovírus tipo 71/NY ^a	4,40E+05 TCID ₅₀ /ml
Amostra clínica — Cepheid	Norovírus GII ^a	2,5 x 10 ⁷ 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 x 10⁶ 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.

Xpert  Carba-R

O efeito inibidor competitivo nos alvos do Carba-R (NDM, IMP, VIM e OXA-48)   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)  s concentrações indicadas na Tabela 25. Incl  ram-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 controle de processamento da amostra (SPC). Os controles 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 controles 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 ^a
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
Clisteres	Óleo mineral	0,25% p/v
Antibiótico (tópico)	Polimixina B/ Neomicina/ Bacitracina (Neosporin)	0,25% p/v
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
Cremes/pomadas anti-hemorroidais	Fenilefrina (Preparação H)	0,25% p/v
Redutor de ácido; antiácido	Omeprazol (Prilosec)	0,25% p/v
Clisteres	Clister 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 ^b

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.

Xpert® Carba-R

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 zaragoas retais negativas agrupadas e em matriz de zaragoas peri-retais negativas agrupadas para uma concentração de 1×10^6 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 zaragoas retais e a matriz de zaragoas 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 zaragoas retais e peri-retais

A reprodutibilidade do ensaio Xpert Carba-R foi avaliada usando dois painéis de 11 amostras, um preparado em matriz de zaragoas retais negativas agrupadas e o outro preparado em matriz de zaragoas peri-retais negativas agrupadas. Dois operadores de cada um dos três centros do estudo testaram um painel de 11 amostras em réplicas 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 ^a	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

Xpert® Carba-R

A reprodutibilidade do ensaio Xpert Carba-R também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct para cada alvo detectado. 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 ^a	Canal de ensaio (analito)	N ^b	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% (24/24)	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)

Xpert® Carba-R

A reprodutibilidade do ensaio Xpert Carba-R também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct para cada alvo detectado. 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 ^a	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	2,5	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 β -lactam/ β -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.

Xpert® Carba-R

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.

23 Tabela de símbolos


Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Não reutilize
	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
	Para utilização apenas com receita médica




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



Anexo 02 – Suplemento 1 - Bula



MEDICAL/SCIENTIFIC AFFAIRS BEST PRACTICES



Implementing an Xpert® Test on the GeneXpert® System (Qualitative)

Introduction

In order to implement a new test into your laboratory you are required by ISO15189:2014 to perform a verification/validation.

- Verification (on-label) versus validation (off-label)
 - Verification is sufficient for on-label use of the CE-IVD test according to the package insert.
 - Test validation is a requirement for off-label use of an test; the validation should be performed according to an institute's accreditation needs. A validation report should be extensive (including accuracy, precision, and linearity studies). The test should be included in the scope of accreditation, including subscription and implementation of an active EQC/ EQA program.
 - Prior to performing a verification/validation your laboratory is required to perform a risk assessment – this will help you to determine the number of samples to test and the level of testing required based on the risk/benefit to the patient.


Section 1: Implementation Verification of a Qualitative Test^{1,2}

Total number of Xpert cartridges required: 15

For the implementation verification of a qualitative test, the following should be performed:

- Precision:
 - Intra-run: not applicable for the Xpert test
 - Inter-run: perform five runs for positive sample
- Accuracy: analyse the following samples using an Xpert test and compare your results to a reference method
 - 5 positive samples
 - 5 negative samples

CE-IVD. In Vitro Diagnostic Medical Device
May not be available in all countries.



• • • Section 2: Implementation Validation of a Qualitative Test^{1,2}

Total number of Xpert® cartridges required: 45

For the implementation validation of a qualitative test, the following should be performed:

- Precision:
 - Intra-run: not applicable for Xpert test
 - Inter-run: perform five runs for a positive sample
- Accuracy: analyse the following samples using an Xpert test and compare your results to a reference method
- 20 positive samples (10 of which should be low positives)
- 20 negative samples

Background

Please describe your specific requirements. Refer to Summary and Explanation and the Principle of the Procedure sections from the Xpert test package Insert.

Bibliography

Please copy and paste (or attach a hard copy) the test specific bibliography provided by Cepheid. Provide any references relative to the Xpert test performance or to off-label indications/use.

Objectives

The aim of the study is to compare the analytical performance of Cepheid's Xpert real time PCR test to the comparator method.

Cepheid test: _____

Comparator method (overview): _____

• • • Overview of Study

Sample type: _____

Collection device: _____

Number of samples for verification/validation: _____

Type of samples to be used (EQC or patient samples etc.): _____

Comparative method chosen: (another molecular method is preferable) _____

Logistics for testing (will the sample be tested simultaneously or on same site/different site etc.):

Materials Required but Not Provided

Please attach the specific test page from the materials checklist document that your FAS team member provided to you.

Comparative Method (describe in detail)

Procedure from Package Insert (SOP)

Please review the Xpert® test procedure from the package insert.

Interpretation of Results

Please review the Interpretation of Results from the test package insert including the Reasons to Repeat the Assay section.

● ● ● Results Table

Please enter the results comparing the Xpert® test to the comparator method in the table found in the Addendum at the end of this document. Print as many copies as needed according to the number of results.

Analysis of Discrepant Results

This section should be addressed in accordance with ISO:15189. All discrepant results must be investigated and the root cause identified.

Conclusions

Please enter an analysis of the above results.

REFERENCES

1. Jennings L, et al. College of American Pathologists Molecular Pathology Resource Committee. Recommended principles and practices for validating clinical molecular pathology tests. Arch Pathol Lab Med. 2009;133(5):743–755.
2. Rabenau HF, et al. Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. J Clin Virol 2007; 40:93–98

