

# **cobas**<sup>®</sup> **MRSA/SA Test**

**para utilização no cobas**<sup>®</sup> **4800 System**

Para diagnóstico *in vitro*



<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>4800 System Sample Preparation Kit</b>	240 Tests 960 Tests	P/N 05235782190 P/N 05235804190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>4800 System Lysis Kit 1</b>	240 Tests 960 Tests	P/N 06768253190 P/N 06768270190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>4800 System Wash Buffer Kit</b>	240 Tests 960 Tests	P/N 05235863190 P/N 05235871190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>4800 System Internal Control Kit 1</b>	20 Runs	P/N 06768318190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit</b>	80 Tests 240 Tests	P/N 06768113190 P/N 06768172190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit</b>	10 Runs	P/N 06768288190

# ÍNDICE

## Utilização

### Resumo e explicação do teste / Princípio do procedimento

Fundamentos: Rastreamento da MRSA e da SA.....	4
Explicação do teste .....	5
Princípios do procedimento .....	5
Preparação de amostras.....	5
Amplificação por PCR e deteção no TaqMan® .....	5
Amplificação seletiva .....	6

### Materiais, reagentes e amostras

Materiais e reagentes fornecidos .....	7
Armazenamento e manuseamento de reagentes .....	9
Materiais adicionais necessários.....	15
Materiais opcionais .....	15
Equipamentos e software necessários mas não fornecidos .....	15

### Precauções e requisitos de manuseamento

Advertências e precauções .....	16
Boas práticas laboratoriais .....	16
Contaminação.....	17
Integridade .....	17
Eliminação.....	17
Derrames e limpeza.....	17
Colheita, transporte e armazenamento de amostras .....	18
Colheita de amostras.....	18
Armazenamento e estabilidade das amostras durante o transporte .....	18

### Instruções de utilização

Execução do teste.....	19
Fluxo de trabalho.....	19
Procedimento de teste .....	19

### Resultados

Controlo de qualidade e validade dos resultados.....	24
Controlo positivo .....	24
Controlo negativo.....	24
Controlo interno .....	24
Interpretação dos resultados.....	25
Lista de alarmes de resultados .....	27

---

Cultura de amostras clínicas.....	27
Limitações do procedimento.....	27
<b>Avaliação do desempenho não clínico</b>	
Sensibilidade analítica.....	29
Deteção de genótipos da MRSA e da SA.....	29
Inclusividade geográfica.....	31
Precisão.....	32
Inibição competitiva.....	33
Especificidade analítica.....	34
Interferência.....	37
Desempenho clínico com amostras clínicas.....	38
Resultados de reprodutibilidade da MRSA.....	40
Resultados de reprodutibilidade da SA.....	42
Desempenho clínico.....	44
Resultados.....	44
Valores esperados.....	47
<b>Informações adicionais</b>	
Características principais do ensaio.....	49
Símbolos.....	50
Apoio técnico.....	51
Fabricante e importador.....	51
Marcas comerciais e patentes.....	51
Direitos de autor.....	51
Bibliografia.....	52
Informações de revisão do documento.....	53

## Utilização

O teste **cobas**® MRSA/SA no **cobas**® 4800 System é um ensaio PCR em tempo real automatizado para a deteção qualitativa rápida *in vitro* de ADN de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e de *Staphylococcus aureus* (SA) a partir de zaragatoas nasais, para ajudar na prevenção e no controlo de infeções por MRSA e SA em ambientes de cuidados de saúde. O teste **cobas**® MRSA/SA não se destina a diagnosticar, orientar ou monitorizar o tratamento de infeções por MRSA ou SA, nem para fornecer resultados de suscetibilidade à meticilina. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de colonização nasal por MRSA/SA. As culturas simultâneas são necessárias para recuperar organismos para tipagem epidemiológica ou para outros testes de suscetibilidade.

## Resumo e explicação do teste / Princípio do procedimento

### Fundamentos: Rastreio da MRSA e da SA

A SA é um agente patogénico oportunista que habita a pele e as narinas como um organismo comensal, afetando aproximadamente 30% da população normal. Tem potencial para causar um largo espectro de doenças.<sup>1</sup> A SA consegue adaptar-se rapidamente à pressão seletiva dos antibióticos, o que resultou no aparecimento e disseminação de estirpes de MRSA. A resistência à meticilina, para além de outros antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, é mediada pelo gene *mecA*, que está localizado num elemento genético móvel, o Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*). O gene *mecA* codifica uma proteína de ligação à penicilina (PBP) 2a, alterada. Isto evita a ligação normal de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos à PBP na parede celular, onde a síntese da camada de peptidoglicano seria interrompida, o que resultaria na morte das células bacterianas. Foram caracterizados vários tipos de SCC*mec*.<sup>2</sup> Em todo o mundo, emergiram e disseminaram-se várias estirpes de MRSA, e o SCC*mec* foi adquirido por diferentes estirpes de SA.<sup>2</sup>

As estirpes da SA e da MRSA são uma fonte importante de infeções adquiridas em ambiente hospitalar e, desde há muitos anos, têm sido responsáveis por surtos bacterianos em ambientes de cuidados de saúde no mundo inteiro.<sup>3,4</sup> As infeções por SA e MRSA são um enorme peso para os sistemas de cuidados de saúde e para os hospitais, e estão associadas a custos significativos de cuidados de saúde.<sup>5</sup> Diretrizes e recomendações<sup>6</sup> assim como procedimentos hospitalares standard, recomendam o rastreio de vigilância activa e o isolamento e/ou descolonização dos doentes como medidas para controlar a disseminação da MRSA e da SA.<sup>7</sup>

Em situações de surtos, poderão ser implementadas medidas adicionais, tais como o rastreio dos profissionais de saúde e dos doentes internados, e/ou o fecho de enfermarias. Apesar das diretrizes públicas, os procedimentos operacionais padrão para o controlo de infeções poderão variar bastante de país para país e de hospital para hospital.

A sensibilidade dos métodos utilizados e o tempo para o resultado parecem ser fatores chave para o êxito das estratégias de rastreio e de tratamento.<sup>8</sup> Os métodos convencionais com base em culturas necessitam de vários dias para que os resultados se tornem aparentes e não permitem a implementação rápida de medidas específicas de controlo de infeções mas, em vez disso, necessitam que medidas mais generalizadas de controlo de infeções sejam usadas para todos os doentes. Apenas técnicas rápidas, como as dos métodos moleculares, permitem a deteção precoce da MRSA e da SA em doentes colonizados e a implementação consequente de precauções de prevenção apropriadas.<sup>9</sup> Vários relatórios comprovaram o valor dos testes moleculares rápidos para a rápida deteção de colonização com MRSA e SA.<sup>10-13</sup>

O teste **cobas**® MRSA/SA é processado em amostras de zaragatoas nasais colhidas com o kit de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio COPAN MSwab. Os tubos que contenham amostras primárias são colocados no **cobas**® 4800 System, e tem lugar o processo automatizado de extração de

ácidos nucleicos e preparação da reação PCR. O subsequente processo de PCR em tempo real deteta o ADN alvo específico da MRSA e da SA na amostra, se presente. O teste pode ser executado simultaneamente com os testes **cobas**® Cdiff e **cobas**® HSV 1 e 2 na mesma corrida. Os três testes partilham o mesmo processo automatizado de extração de amostras, assim como o perfil PCR de amplificação e deteção.

## Explicação do teste

O teste **cobas**® MRSA/SA contém dois processos principais: (1) preparação automatizada de amostras para extrair ácidos nucleicos de amostras nasais; (2) realização de amplificação por PCR de sequências do ADN alvo utilizando iniciadores específicos da MRSA e da SA e deteção em tempo real das sondas de deteção oligonucleotídicas específicas da MRSA e da SA marcadas com corante fluorescente e clivadas. Antes da preparação automatizada de amostras, é adicionado a todas as amostras um controlo interno contendo uma sequência aleatória não relacionada de ADN, e é amplificado e detetado simultaneamente com cada amostra para monitorizar o processo inteiro.

## Princípios do procedimento

### Preparação de amostras

A preparação de amostras para o teste **cobas**® MRSA/SA é automatizada com a utilização do **cobas**® x 480 instrument. Os organismos são lisados com agente caotrópico, proteinase K e reagentes SDS. Os ácidos nucleicos libertados, juntamente com o ADN do controlo interno adicionado, são ligados por partículas magnéticas de vidro. São lavados e depois eluídos num pequeno volume de tampão. O equipamento retira então uma alíquota do material eluído e prepara a reação PCR com uma Mistura Principal ativada.

### Amplificação por PCR e deteção no TaqMan®


Os passos PCR de amplificação e deteção do sinal do alvo ocorrem no **cobas**® z 480 analyzer. O reagente de Mistura Principal contém pares de iniciadores e sondas para três alvos: a região da junção da extremidade direita da cassette de SCCmec que é específica da MRSA, um alvo genómico para todas as SA (incluindo a MRSA) e o controlo interno. Se estiverem presentes as sequências de ácido nucleico alvo, a amplificação com os iniciadores correspondentes ocorrerá através de uma polimerase do ADN termo-estável, gerando produtos da PCR (amplicon). Estes produtos são detetados por sondas TaqMan específicas contendo um corante fluorescente e um supressor. Geralmente o supressor suprime a fluorescência do corante. No entanto, se o produto da PCR estiver presente, a sonda hibridiza-se com o produto e é clivada pela atividade da nuclease 5' a 3' da polimerase. Esta reação permite que seja emitida fluorescência do corante, e o sinal é registado em tempo real durante cada ciclo da PCR pelo **cobas**® z 480 analyzer. O sinal é interpretado pelo software do **cobas**® 4800 System e reportado como resultado final.


## Amplificação seletiva


No teste **cobas**® MRSA/SA, a amplificação seletiva do ácido nucleico alvo a partir da amostra é conseguida com a utilização de uma enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) e de trifosfato de desoxiuridina (dUTP). A enzima AmpErase reconhece e catalisa a destruição de cadeias de ADN que contêm desoxiuridina<sup>11</sup>, mas não o ADN que contém desoxitimidina. A desoxiuridina não se encontra no ADN natural, mas está sempre presente no amplicon, devido ao uso de trifosfato de desoxiuridina em vez de trifosfato de timidina como um dos dNTPs no reagente de Mistura Principal; por conseguinte, somente o amplicon contém desoxiuridina. A desoxiuridina torna o amplicon contaminante suscetível à destruição pela enzima AmpErase antes da amplificação do ADN alvo. A enzima AmpErase, que está incluída no reagente de Mistura Principal, catalisa a clivagem de ADN contendo desoxiuridina em resíduos de desoxiuridina, ao abrir a cadeia de desoxiribose na posição C1. Quando aquecida no primeiro passo de amplificação térmica, no pH alcalino da Mistura Principal, a cadeia de ADN do amplicon quebra-se na posição da desoxiuridina, tornando assim o ADN não amplificável. A enzima AmpErase é inativa a temperaturas acima dos 55 °C, ou seja, durante os passos de amplificação térmica, pelo que não destrói o amplicon alvo. O teste **cobas**® MRSA/SA demonstrou inativar pelo menos 10<sup>3</sup> cópias de amplicon MRSA/SA contendo desoxiuridina, por PCR.


# Materiais, reagentes e amostras


## Materiais e reagentes fornecidos


Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
<b>cobas® 4800 System</b> Sample Preparation Kit (Kit de Preparação de Amostras do <b>cobas® 4800 System</b> ) 240 testes (P/N: 05235782190)	<b>MGP</b> (Partículas Magnéticas de Vidro do <b>cobas® 4800 System</b> ) Partículas Magnéticas de Vidro 93% de isopropanol**	10 × 4,5 ml	 <p><b>PERIGO</b>            H225: Líquido e vapor facilmente inflamáveis.            H319: Provoca irritação ocular grave.            H336: Pode provocar sonolência ou vertigens.            P210: Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.            P233: Manter o recipiente bem fechado.            P261: Evitar respirar as névoas ou vapores.            P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva.            P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.            P370 + P378: Em caso de incêndio: para extinguir, utilizar areia seca, pó químico ou espuma resistente a álcool.            67-63-0 Propano-2-ol</p>
	<b>EB</b> (Tampão de Eluição do <b>cobas® 4800 System</b> ) Tampão Tris 0,09% de azida sódica	10 × 18 ml	N/A

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
<b>cobas® 4800 System</b> Sample Preparation Kit (Kit de Preparação de Amostras do <b>cobas® 4800 System</b> ) 960 testes (P/N: 05235804190)	<b>MGP</b> (Partículas Magnéticas de Vidro do <b>cobas® 4800 System</b> ) Partículas Magnéticas de Vidro 93% de isopropanol**	10 × 13,5 ml	 <p><b>PERIGO</b>            H225: Líquido e vapor facilmente inflamáveis.            H319: Provoca irritação ocular grave.            H336: Pode provocar sonolência ou vertigens.            P210: Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.            P233: Manter o recipiente bem fechado.            P261: Evitar respirar as névoas ou vapores.            P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva.            P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.            P370 + P378: Em caso de incêndio: para extinguir, utilizar areia seca, pó químico ou espuma resistente a álcool.            67-63-0 Propano-2-ol</p>
	<b>EB</b> (Tampão de Eluição do <b>cobas® 4800 System</b> ) Tampão Tris 0,09% de azida sódica	10 × 18 ml	N/A

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
<p><b>cobas®</b> 4800 System Lysis Kit 1 240 testes (P/N: 06768253190)</p>	<p><b>LYS-1</b> (Tampão de lise 1 do <b>cobas®</b> 4800 System) Citrato de sódio 5% de Polidocanol** 42,6% de Tiocianato de guanidina** Ditiotreitolo**</p>	<p>10 × 10 ml</p>	 <p><b>PERIGO</b> H302: Nocivo por ingestão. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P305 + P351 + P338 + P310: 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. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P391: Recolher o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
<b>cobas® 4800 System Lysis Kit 1</b> 240 testes (P/N: 06768253190)	<b>PK</b> (Protease K do <b>cobas® 4800 System</b> ) Tampão Tris EDTA Cloreto de cálcio Acetato de cálcio < 2,0% de proteinase K* Glicerina	10 x 0,9 ml	 <p><b>PERIGO</b></p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.</p> <p>H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias.</p> <p>P261: Evitar respirar as névoas ou vapores.</p> <p>P280: Usar luvas de proteção.</p> <p>P284: Usar proteção respiratória.</p> <p>P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração.</p> <p>P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.</p> <p>P342 + P311: Em caso de sintomas respiratórios: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.</p> <p>39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serine</p>
	<b>SDS</b> (Reagente SDS do <b>cobas® 4800 System</b> ) Tampão Tris Dodecil sulfato de sódio 0,09% de azida de sódio	10 x 3 ml	N/A

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
<p><b>cobas®</b> 4800 System Lysis Kit 1 960 testes (P/N: 06768270190)</p>	<p><b>LYS-1</b> (Tampão de lise 1 do <b>cobas®</b> 4800 System) Citrato de sódio 5% de Polidocanol** 42,6% de Tiocianato de guanidina** Ditiotreitolo**</p>	<p>10 × 36 ml</p>	 <p><b>PERIGO</b> H302: Nocivo por ingestão. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P305 + P351 + P338 + P310: 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. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P391: Recolher o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
<b>cobas® 4800 System Lysis Kit 1</b> 960 testes (P/N: 06768270190)	<b>PK</b> (Protease K do <b>cobas® 4800 System</b> ) Tampão Tris EDTA Cloreto de cálcio Acetato de cálcio < 2,0% de proteinase K** Glicerina	20 × 1,2 ml	 <p><b>PERIGO</b>            H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.            H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias.            P261: Evitar respirar as névoas ou vapores.            P280: Usar luvas de proteção.            P284: Usar proteção respiratória.            P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração.            P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.            P342 + P311: Em caso de sintomas respiratórios: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.            39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serine</p>
	<b>SDS</b> (Reagente SDS do <b>cobas® 4800 System</b> ) Tampão Tris Dodecil sulfato de sódio 0,09% de azida de sódio	10 × 9 ml	N/A
<b>cobas® 4800 System Wash Buffer Kit</b> 240 testes (P/N: 05235863190)	<b>WB</b> (Tampão de Lavagem do <b>cobas® 4800 System</b> ) Citrato de sódio desidratado 0,05% de N-Metilisotiazolona-HCl	10 × 55 ml	N/A
<b>cobas® 4800 System Wash Buffer Kit</b> 960 testes (P/N: 05235871190)	<b>WB</b> (Tampão de Lavagem do <b>cobas® 4800 System</b> ) Citrato de sódio desidratado 0,05% de N-Metilisotiazolona-HCl	10 × 200 ml	N/A
<b>cobas® 4800 System Internal Control Kit 1</b> 20 corridas (P/N: 06768318190)	<b>IC-1</b> (IC-1 do <b>cobas® 4800</b> ) Tampão Tris EDTA < 0,01% de ARN de Poli rA (sintético) 0,05% de azida de sódio < 0,01% de ADN não infeccioso e sintético do controlo interno, encapsulado em proteína coberta de bacteriófago Lambda	20 × 0,5 ml	N/A

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
<b>cobas® 4800 MRSA/SA</b> Amplification/Detection Kit 80 testes (P/N: 06768113190)	<b>MRSA/SA MMX</b> (Mistura Principal do <b>cobas® MRSA/SA</b> ) Tampão de tricina EDTA Acetato de potássio Hidróxido de potássio Tween 20 Glicerol 0,09% de azida de sódio < 0,19% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% de iniciadores da MRSA, SA e do controlo interno a jusante e a montante < 0,01% de sondas de MRSA, SA e de controlo interno de marcação fluorescente < 0,01% de aptâmero oligonucleotídico < 0,01% de polimerase do ADN Z05 (de origem microbiana) < 0,02% de enzima de AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana)	10 × 0,3 ml	N/A
<b>cobas® 4800 MRSA/SA</b> Amplification/Detection Kit 240 testes (P/N: 06768172190)	<b>MRSA/SA MMX</b> (Mistura Principal do <b>cobas® MRSA/SA</b> ) Tampão de tricina EDTA Acetato de potássio Hidróxido de potássio Tween 20 Glicerol 0,09% de azida de sódio < 0,19% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% de iniciadores da MRSA, SA e do controlo interno a jusante e a montante < 0,01% de sondas de MRSA, SA e de controlo interno de marcação fluorescente < 0,01% de aptâmero oligonucleotídico < 0,01% de polimerase do ADN Z05 (de origem microbiana) < 0,02% de enzima de AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana)	10 × 0,7 ml	N/A

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit 10 corridas (P/N: 06768288190)	<b>MRSA/SA (+) C</b> (Controlo Positivo do cobas® MRSA/SA) Tampão Tris EDTA < 0,01% de ARN de Poli rA (sintético) 0,05% de azida de sódio < 0,01% de ADN de plasmídeo não infeccioso (de origem microbiana) contendo sequência de MRSA < 0,01% de ADN de plasmídeo não infeccioso (de origem microbiana) contendo sequência de SA	10 × 0,5 ml	N/A
	<b>(-) C</b> (Controlo negativo do cobas® 4800) Tampão Tris EDTA < 0,01% de ARN de Poli rA (sintético) 0,05% de azida de sódio	10 × 0,5 ml	N/A
	<b>Cofactor-1</b> (Co-factor 1 do cobas® 4800) Acetato de manganês Acetato de magnésio 0,09% de azida de sódio	10 × 1,7 ml	N/A

\* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

\*\* Substância perigosa

## Armazenamento e manuseamento de reagentes

Reagente	Temperatura de armazenamento	Tempo de armazenamento
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de Preparação de Amostras do cobas® 4800 System)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Kit de Lise 1 do cobas® 4800 System)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Kit de Controlo Interno 1 do cobas® 4800 System)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit (Kit de Amplificação/Deteção cobas® 4800 MRSA/SA)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit (Kit de Controlos e Co-factor cobas® 4800 MRSA/SA)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit de Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System)	15 a 25 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado

Não congelar os reagentes.

A data de validade do reagente baseia-se no Tempo Universal Coordenado (UTC). A hora local do prazo de validade do reagente pode ser ajustada para mais ou menos 12 horas, consoante o fuso horário local em relação ao UTC.

## Materiais adicionais necessários

<b>Materiais</b>	<b>P/N</b>
Pontas CORE, 1000 µl, rack de 96	04639642001
Reservatório de reagente de 50 ml	05232732001
Reservatório de reagente de 200 ml	05232759001
Placa de extração (poços fundos) do <b>cobas</b> ® 4800 System	05232716001
Placa AD (microplaca) de 0,3 ml e Película vedante do <b>cobas</b> ® 4800 System	05232724001
Aplicador de película vedante	04900383001
Suporte de 32 posições	04639529001
Saco de desperdícios sólidos	05530873001 (pequeno) ou 04691989001 (grande)
Manga de Plástico Hamilton STAR	Roche 04639669001
Sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab	07007248190 ou COPAN P/N 404C.R ou 404C
Luvas descartáveis, sem pó	São aceitáveis quaisquer luvas descartáveis sem pó.
Misturador de agitação forte (tubo único)	É aceitável qualquer misturador de agitação forte.

Para mais informações relativamente a materiais vendidos em separado, contacte o representante local da Roche.

## Materiais opcionais

<b>Materiais</b>	<b>P/N</b>
Tampas de selagem ou tampa de placa de poços fundos	Roche 04789288001 ou Hamilton 6474-01
Tampas, cor branca (para tapar os tubos primários após execução de amostras)	07033893001 ou COPAN 2U008N100.R ou 2U008N100

Para mais informações relativamente a materiais opcionais, contacte o representante local da Roche.

## Equipamentos e software necessários mas não fornecidos

<b>Equipamentos e software necessários, não fornecidos</b>
<b>cobas</b> ® 4800 System <b>cobas</b> ® x 480 instrument <b>cobas</b> ® z 480 analyzer Unidade de controlo
Software de AP <b>cobas</b> ® MRSA/SA do <b>cobas</b> ® 4800 System, versão 1.0.0 ou superior
Software de Aplicação (Core) do <b>cobas</b> ® 4800 System, versão 2.2.0 ou superior

Para mais informações relativamente a materiais vendidos em separado, contacte o representante local da Roche.

## Precauções e requisitos de manuseamento

### Advertências e precauções

À semelhança do que sucede com qualquer procedimento de teste, boas práticas laboratoriais são essenciais para um desempenho adequado deste ensaio. Em virtude da elevada sensibilidade analítica deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes, as amostras e as misturas de amplificação isentas de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- Evitar a contaminação dos reagentes e amostras por micróbios e ADN. Aproximadamente 30% da população é portadora da SA que poderá habitar nas narinas ou na pele. Esteja especialmente alerta quando manusear amostras e reagentes para evitar uma potencial contaminação por SA do operador.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (SDS, Safety Data Sheets) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- O reagente LYS-1 contém tiocianato de guanidina. Não permita o contacto direto entre o tiocianato de guanidina e o hipoclorito de sódio (lixívia) ou outros reagentes altamente reativos tais como ácidos ou bases. Essas misturas podem libertar gases nocivos.
- O MGP contém isopropanol e é facilmente inflamável. Manter afastado de chamas e ambientes propícios à produção de faíscas.
- Os EB, MRSA/SA MMX, SDS, Cofactor-1, (-)C, MRSA/SA (+)C e IC-1 contêm azida sódica.
- Para outras advertências, precauções e procedimentos para reduzir o risco de contaminação no **cobas**® x 480 instrument ou no **cobas**® z 480 analyzer, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System. Se houver suspeita de contaminação, efetue a limpeza e a manutenção semanal, conforme descrito na Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.
- Informe as autoridades competentes locais e o fabricante sobre quaisquer incidentes graves que possam ocorrer ao utilizar este ensaio.

**Nota: Para instruções específicas, consulte “Colheita, transporte e armazenamento de amostras”.**

### Boas práticas laboratoriais

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não comer, beber ou fumar em áreas de trabalho laboratorial.
- Lave muito bem as mãos depois de manusear amostras e reagentes do kit.
- Ao manusear quaisquer reagentes, usar sempre proteção para os olhos, bata de laboratório e luvas descartáveis. Evitar o contacto destes materiais com a pele, olhos ou membranas mucosas. Se ocorrer contacto, lavar imediatamente com água em abundância. Caso não seja efetuado tratamento, podem surgir queimaduras. Se ocorrer derrame, diluir com água antes de secar.
- Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada (diluir lixívia doméstica a 1:10). Em seguida esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.

## Contaminação

- Para evitar contaminação, devem ser usadas luvas que devem ser trocadas entre o manuseamento de amostras e de reagentes do **cobas**® MRSA/SA. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controles. Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes do kit.
- Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se o carryover de amostras não for impedido durante a manipulação das amostras.
- As amostras deverão ser manuseadas como se fossem infecciosas, utilizando procedimentos de laboratório seguros, tais como os descritos em *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>14</sup> e no Documento M29-A4 do CLSI.<sup>15</sup>

## Integridade

- Não utilizar kits fora dos prazos de validade.
- Não misturar reagentes.
- Não utilizar produtos descartáveis que tiverem ultrapassado o respetivo prazo de validade.
- Não utilizar reagentes ou contentores que estão visivelmente danificados ou mostrem sinais de fuga.
- Todos os itens descartáveis são para uma única utilização. Não reutilizar.
- Todos os equipamentos devem ser mantidos adequadamente, de acordo com as instruções do fabricante.

## Eliminação

- Os reagentes **cobas**® 4800 e os reagentes específicos do teste **cobas**® MRSA/SA contêm azida sódica (consultar “**Advertências e precauções**”). A azida sódica pode reagir com tubagens de chumbo e de cobre, produzindo azidas metálicas altamente explosivas. Quando eliminar soluções contendo azida sódica nos lavatórios do laboratório, lave os canos com um grande volume de água fria para impedir a formação de azidas.
- Eliminar os reagentes não utilizados e os desperdícios em conformidade com as regulamentações nacionais e locais.

**Nota: Para a eliminação de resíduos líquidos, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.**

## Derrames e limpeza

- O reagente LYS-1 contém tiocianato de guanidina. Caso ocorra derramamento de líquido que contenha tiocianato de guanidina, limpar com detergente laboratorial adequado e água. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, limpar PRIMEIRO a área afetada com detergente laboratorial e água e em seguida com hipoclorito de sódio a 0,5%.
- Se o derramamento ocorrer no **cobas**® 4800 instrument, siga as instruções de limpeza apresentadas na Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.
- Não utilize solução de hipoclorito de sódio (lixívia) para a limpeza do **cobas**® x 480 instrument ou do **cobas**® z 480 analyzer. Limpe o **cobas**® x 480 instrument ou o **cobas**® z 480 analyzer de acordo com os procedimentos descritos na Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.

## Colheita, transporte e armazenamento de amostras

**Nota: Manusear todas as amostras tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos.**

### Colheita de amostras

Foram validadas para utilização com o teste **cobas**® MRSA/SA, amostras de zaragatoas nasais colhidas com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab. As amostras deverão ser colhidas seguindo o procedimento descrito na secção “Procedimento de colheita de amostras” e de acordo com os procedimentos operacionais padrão da sua instituição.

### Armazenamento e estabilidade das amostras durante o transporte

As amostras de zaragatoas nasais colhidas com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab mantêm-se estáveis para transporte e armazenamento entre 2 e 30 °C durante 4 dias, entre 2 e 8 °C durante 9 dias e congeladas a -20 °C durante 30 dias antes de serem testadas no **cobas**® 4800 System (isto foi demonstrado testando amostras depois de vários armazenamentos consecutivos a  $15 \pm 1$  °C e  $31 \pm 1$  °C durante 4 dias, seguido de armazenamento entre 2 e 8 °C durante 5 dias, seguido de armazenamento a  $-20 \pm 5$  °C durante 30 dias).

O transporte de amostras MRSA/SA deve obedecer às regulamentações nacionais, federais, estaduais e locais relativas ao transporte de agentes etiológicos.

# Instruções de utilização

## Execução do teste

### Fluxo de trabalho

**Figura 1:** Fluxo de trabalho do cobas® MRSA/SA

1	Iniciar o sistema.
2	Executar a manutenção do equipamento.
3	Retirar as amostras e os reagentes do armazenamento.
4	Iniciar corrida: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carregar suportes com amostras.</li> </ul>
5	Com LIS: confirmar ordem de trabalho Sem LIS: criar ordem de trabalho
6	Carregar consumíveis (placa de poços fundos, microplaca, racks de pontas) e reagentes
7	Iniciar corrida de preparação de amostras
8	Descarregar e selar microplaca
9	Retirar amostras, reagentes usados e placa de poços fundos.
10	Carregar microplaca no analisador
11	Examinar resultados
12	Com LIS: enviar resultados para o LIS
13	Descarregar analisador

### Procedimento de teste

#### Procedimento de colheita de amostras

1. Utilize a zaragatoa fornecida no kit de colheita MSwab. Utilize a zaragatoa seca ou humedecida previamente com duas gotas de soro fisiológico esterilizado.
2. Insira cuidadosamente a zaragatoa na narina do doente (a ponta da zaragatoa deverá ser inserida até 2,5 cm da borda da narina).
3. Role 3 vezes a zaragatoa ao longo da mucosa no interior da narina.
4. Repita os passos 2 e 3 na outra narina com a mesma zaragatoa.
5. Volte a colocar a zaragatoa no respetivo tubo de transporte. Encoste a haste da zaragatoa contra a borda do tubo e pressione para a partir pelo ponto pré-ponteado.
6. Feche a tampa firmemente enquanto se assegura de que a extremidade superior da haste da zaragatoa se encontra no centro da tampa.
7. Rotule a amostra e transporte-a para o laboratório, de acordo com os procedimentos operacionais padrão da sua instituição (consulte a secção “**Armazenamento e estabilidade das amostras durante o transporte**”). Consulte a secção “**Fluxo de trabalho**” para notas sobre amostras.

Todos os reagentes exceto a MRSA/SA MMX e o Cofactor-1 devem estar à temperatura ambiente antes de serem carregados no cobas® x 480 instrument. Os reagentes MRSA/SA MMX e Cofactor-1 podem ser

retirados diretamente do armazenamento entre 2 e 8 °C, porque na altura que forem usados no processo a bordo do **cobas®** x 480 instrument, já estarão à temperatura ambiente.

**Nota: Para instruções de operação detalhadas, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.**

#### Tamanho da corrida

O **cobas®** 4800 System foi concebido para fazer corridas mistas de testes **cobas®** MRSA/SA, **cobas®** Cdiff e **cobas®** HSV 1 e 2. O kit genérico de Preparação de Amostras do **cobas®** 4800 System, o kit genérico de Lise 1 do **cobas®** 4800 System e o kit genérico de Tampão de Lavagem do **cobas®** 4800 System estão disponíveis em dois tamanhos de kit, cada um suficiente para 10 corridas de até 24 ou até 96 amostras, incluindo os controlos e amostras para todos os ensaios a executar. O kit de Amplificação/ Detecção **cobas®** 4800 MRSA/SA está disponível em dois tamanhos, cada um suficiente para testar 80 ou 240 amostras, incluindo os controlos e amostras MRSA/SA a executar. Podem ser utilizados vários frascos do reagente de Mistura Principal do **cobas®** 4800 MRSA/SA, conforme for apropriado numa corrida, desde que tenham o mesmo tamanho de kit. O kit genérico de Controlo Interno 1 do **cobas®** 4800 System e o kit de Controlos e Co-factor **cobas®** 4800 MRSA/SA estão disponíveis num único tamanho de kit, que é suficiente para 20 e 10 corridas respetivamente, e podem suportar todas as configurações de corridas. Para cada corrida contendo amostras MRSA/SA, tem de ser executado um controlo positivo **cobas®** 4800 MRSA/SA e um controlo negativo do **cobas®** 4800 System (consultar “**Controlo de Qualidade**”). Para uma única corrida de teste, o número máximo permitido de amostras é 94 amostras e dois controlos.

**Nota: Embora não tenha um uso ideal de reagentes, um reagente genérico para 96 testes pode ser utilizado para uma corrida contendo 1 a 22 amostras. No entanto, não podem ser misturados tamanhos diferentes do kit de Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System, do kit de Preparação de Amostras do cobas® 4800 System e do kit de Lise 1 do cobas® 4800 System. Por exemplo, se no início da corrida for registado um frasco de reagente de Tampão de Lavagem para 96 testes, devem ser usados também reagentes para 96 testes dos outros dois kits.**

**Nota: Embora não tenha um uso ideal de reagentes, um reagente cobas® 4800 MRSA/SA MMX para 24 testes pode ser utilizado numa corrida que contenha 1 a 6 amostras MRSA/SA. Para detalhes sobre como alterar o tamanho do kit, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.**

#### Fluxo de trabalho

O teste **cobas®** MRSA/SA é executado utilizando o fluxo de trabalho “Full workflow” (fluxo de trabalho Completo) no software **cobas®** 4800. Este fluxo de trabalho consiste na preparação de amostra no **cobas®** x 480 instrument, seguida de amplificação/detecção no **cobas®** z 480 analyzer. A corrida pode ser só de MRSA/SA, ou pode ser misturada com o teste **cobas®** Cdiff e/ou teste **cobas®** HSV 1 e 2. Para obter detalhes, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas®** 4800 System.

#### Amostras

**Nota: O teste cobas® MRSA/SA foi validado para ser utilizado com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab. Não utilize outros dispositivos de colheita de zaragatoas ou outros tipos de meios.**

**Nota: Uma amostra de zaragatoa nasal colhida adequadamente deverá ter uma única zaragatoa FLOQ com a haste fixa pela tampa. As amostras sem zaragatoa ou com mais de uma zaragatoa não foram colhidas de acordo com as instruções e não devem ser testadas.**

**Nota:** Não processe amostras de zaragatoas nasais que aparentem ter sangue ou que tenham uma cor castanha escura.

**Nota:** As amostras devem estar nos tubos de amostra primários com o código de barras apropriado, para processamento no cobas® x 480 instrument. Consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System para os procedimentos de colocação apropriada de códigos de barras e para a lista de códigos de barras que são aceites pelo cobas® 4800 System.

**Nota:** Para evitar contaminação cruzada, recomenda-se que os tubos primários sejam processados no cobas® 4800 System antes de terem sido utilizados noutros processamentos ou testes.

**Nota:** Para evitar contaminação cruzada de amostras processadas, deverão ser utilizadas novas tampas de cor diferente (branca; ver “Materiais opcionais”) para tapar os tubos de amostras em meio MSwab após o processamento.

**Nota:** As amostras de zaragatoas nasais colhidas em meio MSwab contêm volume suficiente para serem testadas duas vezes no cobas® 4800 System, e também podem ser usadas para qualquer procedimento de cultura necessário (ver “Cultura de amostras clínicas”), desde que não tenha ocorrido qualquer derrame durante o manuseamento da amostra. Para instruções de inoculação de culturas, consulte o folheto informativo do sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab. O volume de amostra mínimo para efetuar uma corrida cobas® MRSA/SA é de 700 µl no tubo primário de amostra em meio MSwab.

#### Execução de um teste cobas® MRSA/SA

**Nota:** Podem ser executadas corridas mistas entre o teste cobas® MRSA/SA e o teste cobas® Cdiff e/ou o teste cobas® HSV 1 e 2. Para mais informações, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

1. Efetue o arranque do sistema e os procedimentos de manutenção, seguindo as instruções da Assistência ao utilizador do **cobas®** 4800 System.
2. Reúna todos os reagentes e consumíveis necessários. Os reagentes devem estar à temperatura ambiente na altura em que a corrida é iniciada, à exceção dos reagentes **cobas®** MRSA/SA MMX e Cofactor-1.

**Nota:** Todos os reagentes e reservatórios de reagentes têm códigos de barras e foram concebidos para serem utilizados uma só vez. O software cobas® 4800 deteta a utilização dos reagentes e dos reservatórios de reagentes e rejeita os reagentes ou reservatórios de reagentes utilizados anteriormente.

3. Verifique o aspeto das amostras de zaragatoas nasais colhidas em meio MSwab para se certificar de que satisfazem os requisitos indicados na secção “**Amostras**”. Certifique-se de que todas as tampas estão firmemente colocadas. Misture a amostra com agitação forte durante um mínimo de 10 segundos. Abra o tubo (a parte superior da zaragatoa deverá estar presa pela tampa) e faça girar a zaragatoa contra o interior da parede do tubo para drenar o excesso de líquido. Desfaça-se da tampa com a zaragatoa imediatamente antes do carregamento no **cobas®** 4800 System. Certifique-se de que a zaragatoa é retirada com a tampa. Uma zaragatoa deixada no frasco da amostra interfere com o teste **cobas®** MRSA/SA.

4. Inicie uma nova corrida definindo a ordem de trabalho da corrida. Existem três maneiras de criar uma ordem de trabalho:
  - Utilizando o editor de amostras antes de carregar a rack de amostras no **cobas**® x 480 instrument (botão “Editor” à direita do menu principal). As ordens de trabalho podem ser guardadas, editadas e recarregadas, se necessário.
  - Seguindo o assistente do software para a nova corrida e carregando as amostras no **cobas**® x 480 instrument quando o sistema solicitar. Os códigos de barras das amostras serão automaticamente lidos e são registados os testes pretendidos para cada amostra.
  - Utilizando o sistema LIS da sua instituição.

Para mais detalhes, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System. Quando seleccionar os resultados pretendidos, marque apenas “MRSA”, marque “MRSA” e “SA” ou marque apenas “SA”, consoante os testes que necessitam de ser efetuados. Por exemplo, se for selecionado apenas “SA”, não estarão disponíveis resultados de MRSA.

5. Carregue amostras e defina/selecione a ordem de trabalho ou utilize o LIS, conforme apropriado. A opção “Unload sample carriers after transferring to deep well plate” está selecionada por predefinição. Isto permite ao operador retirar as amostras o mais rapidamente possível, depois de terem sido divididas em alíquotas para processamento pelo **cobas**® x 480 instrument. Os tubos de amostra devem ser tapados com novas tampas (ver “**Materiais opcionais**”), caso seja necessário armazená-los.
6. Siga as indicações do assistente do software para carregar consumíveis. Não coloque ou retire pontas individuais de uma rack de pontas parcialmente usada, uma vez que o software regista o número de pontas que sobra. Se não houver pontas suficientes para executar a corrida, o software alerta o utilizador.
7. Carregue os reagentes de preparação de amostras nos reservatórios de reagentes com códigos de barras. Os reservatórios de reagentes estão disponíveis em dois tamanhos: 200 ml e 50 ml. Siga as indicações do assistente do software para seleccionar o tamanho correto do reservatório de reagente. Os códigos de barras dos reservatórios de reagentes devem estar virados para a direita do suporte. Utilize o método “ler-ler-verter-colocar” para carregar os reagentes de preparação de amostras:
  - Faça a leitura do código de barras do frasco de reagente
  - Faça a leitura do código de barras do reservatório de reagente
  - Verta o reagente no reservatório
  - Coloque o reservatório de reagente cheio no suporte de reagentes na posição designada

**Nota: O cobas**® 4800 System dispõe de um relógio interno para monitorizar o intervalo de tempo que os reagentes estão a bordo do equipamento. Uma vez lido o WB, dispõe de 1 hora para concluir o processo de carregamento e clicar no botão “Start”. Aparece um temporizador de contagem decrescente no separador “Workplace”. O sistema não permite que a corrida se inicie se tiver expirado o tempo a bordo do equipamento.

**Nota: Para garantir a precisão da transferência do MGP, agite vigorosamente o frasco de MGP imediatamente antes de o dispensar no reservatório de reagente.**

8. Carregue os reagentes de amplificação/deteção (MRSA/SA MMX e Co-factor 1), o Proteinase K (PK) e os controlos [MRSA/SA (+) C, IC e (-) C] diretamente nos suportes de reagentes. De modo a evitar contaminação, é necessário trocar as luvas depois de manusear controlos positivos.

**Nota: O assistente do software calcula o número e o tamanho ideal de reagente cobas**® MRSA/SA MMX a utilizar. Isto será indicado na coluna “Kit size” do ecrã de carregamento de MMX e Co-factor. Para usar um tamanho diferente de reagente cobas® MRSA/SA MMX, clique no botão “Change kit size”.

9. Inicie a preparação de amostras clicando em “Start run”.
10. Depois de concluída com êxito a corrida de preparação de amostras, ficam disponíveis os botões “Sample Preparation results” e “Unload”. Se desejar examinar os resultados, selecione o botão “Sample Preparation results” e depois selecione “Unload” para descarregar o suporte de placas. Alternativamente, selecione “Unload” para descarregar o suporte de placas sem examinar os resultados. Consulte a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.
11. Siga as instruções da Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System para selar a microplaca, transportar a placa para o **cobas**® z 480 analyzer e iniciar a corrida de amplificação e deteção.

**Nota: O cobas® 4800 System dispõe de um relógio interno para monitorizar o intervalo de tempo após a adição da mistura principal às amostras preparadas. A amplificação e deteção deverá ser iniciada o mais cedo possível, mas nunca depois de 90 minutos após o final da corrida no cobas® x 480 instrument. Aparece um temporizador de contagem decrescente no separador “Workplace”. O sistema cancela a corrida se tiver expirado o tempo a bordo do equipamento.**

12. Quando estiver concluída a corrida de amplificação e deteção, descarregue a microplaca do **cobas**® z 480 analyzer.
13. Para conferir e aceitar resultados, siga as instruções da Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.

# Resultados

## Controlo de qualidade e validade dos resultados

Numa corrida é incluído sempre um conjunto de controlos negativo e positivo do teste **cobas**® MRSA/SA. Em qualquer corrida, para apresentar os resultados do teste **cobas**® MRSA/SA dessa corrida, têm de ser obtidos resultados válidos para ambos os controlos positivo e negativo do software **cobas**® 4800.

### Controlo positivo

O controlo MRSA (+) contém ADN de plasmídeos não infecciosos das bactérias MRSA e *Staphylococcus aureus*. O controlo MRSA/SA (+) monitoriza os passos de extração, amplificação e deteção de uma determinada corrida do teste. O resultado do controlo MRSA/SA (+) deve ser “Valid”. Se os resultados do controlo MRSA/SA (+) forem, de forma consistente, “Invalid”, contacte o representante local da Roche, para obter assistência técnica.

### Controlo negativo

O resultado do controlo (-) deve ser “Valid”. Se os resultados do controlo (-) forem, de forma consistente, “Invalid”, contacte o representante local da Roche, para obter assistência técnica.

### Controlo interno

O controlo interno é uma molécula fago lambda que contém alvos e sequências aleatórias para sondas e iniciadores específicos do controlo interno. O controlo interno é adicionado a todas as amostras e aos controlos positivo e negativo durante a preparação de amostras no **cobas**® x 480 instrument. O controlo interno monitoriza os passos de extração, amplificação e deteção de ácido nucleico de uma determinada amostra. O controlo interno também é necessário para a validação dos controlos da corrida.

## Interpretação dos resultados

**Nota: A validação de todos os ensaios e corridas é determinada pelo software cobas® 4800.**

**Nota: Uma corrida válida poderá incluir resultados de amostras válidos e inválidos.**

Para uma corrida válida, os resultados de amostra são interpretados conforme indicado na Tabela 1.

**Tabela 1** Interpretação de resultados do teste cobas® MRSA/SA

Teste cobas® MRSA/SA	Relatório e Interpretação de Resultados
<b>Resultado pretendido “MRSA/SA”</b>	
POS MRSA, POS SA	<b>Positivo para a MRSA, Positivo para a SA</b> A amostra é positiva quanto à presença de MRSA e SA.
NEG MRSA, NEG SA	<b>Negativo para a MRSA*, Negativo para a SA*</b> Não foi detetada a MRSA nem a SA, mesmo se presentes.
NEG MRSA, POS SA	<b>Negativo para a MRSA*, Positivo para a SA</b> Não foi detetada a MRSA, mesmo se presente. A amostra é positiva para a presença de SA.
Invalid MRSA, POS SA	<b>Inválido para a MRSA, Positivo para a SA</b> <b>O resultado para a MRSA é inválido. A amostra original deverá ser novamente testada para obter um resultado válido para a MRSA.</b> A amostra é positiva para a presença de SA.
Invalid MRSA, NEG SA	<b>Inválido para a MRSA, Negativo para a SA*</b> O resultado para a MRSA é inválido. A amostra original deverá ser novamente testada para obter resultados válidos para a MRSA. Não foi detetada a SA, mesmo se presente.
NEG MRSA, Invalid SA	<b>Negativo para a MRSA*, Inválido para a SA</b> Não foi detetada a MRSA, mesmo se presente. O resultado para a SA é inválido. A amostra original deverá ser novamente testada para obter um resultado válido para a SA.
Invalid MRSA, Invalid SA	<b>Inválido para a MRSA, Inválido para a SA</b> Os resultados tanto para a MRSA como para a SA são inválidos. A amostra original deverá ser novamente testada para obter resultados válidos para a MRSA e para a SA.
Failed	<b>Nenhum resultado para a amostra</b> Para instruções sobre como analisar alarmes de corridas e as ações recomendadas, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System. Se for detetado um cóágulo e ainda houver volume suficiente, a amostra original deverá ser vigorosamente misturada durante um mínimo de 10 segundos e novamente testada para obter resultados válidos para a MRSA e a SA.

**Tabela 1** Interpretação de resultados do teste cobas® MRSA/SA (continuação)

Teste cobas® MRSA/SA	Relatório e Interpretação de Resultados
<b>Resultado pretendido “MRSA”</b>	
POS MRSA	<b>Positivo para a MRSA</b> A amostra é positiva para a presença de MRSA.
NEG MRSA	<b>Negativo para a MRSA*</b> Não foi detetada a MRSA, mesmo se presente.
Invalid MRSA	<b>Inválido para a MRSA</b> O resultado para a MRSA é inválido. A amostra original deverá ser novamente testada para obter um resultado válido para a MRSA.
Failed	<b>Nenhum resultado para a amostra</b> Para instruções sobre como analisar alarmes de corridas e as ações recomendadas, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System. Se for detetado um coágulo e ainda houver volume suficiente, a amostra original deverá ser vigorosamente misturada durante um mínimo de 10 segundos e novamente testada para obter resultados válidos para a MRSA.
<b>Resultado pretendido “SA”</b>	
POS SA	<b>Positivo para a SA</b> A amostra é positiva para a presença de SA.
NEG SA	<b>Negativo para a SA*</b> Não foi detetada a SA, mesmo se presente.
Invalid SA	<b>Inválido para a SA</b> O resultado para a SA é inválido. A amostra original deverá ser novamente testada para obter um resultado válido para a SA.
Failed	<b>Nenhum resultado para a amostra</b> Para instruções sobre como analisar alarmes de corridas e as ações recomendadas, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System. Se for detetado um coágulo e ainda houver volume suficiente, a amostra original deverá ser vigorosamente misturada durante um mínimo de 10 segundos e novamente testada para obter resultados válidos para a SA.

\* Um resultado negativo não exclui a presença de MRSA e/ou SA, porque os resultados dependem de uma colheita de amostra adequada, da ausência de inibidores e de ADN suficiente para poder ser detetado.

Poderão ser obtidos resultados inválidos se as amostras contiverem substâncias inibidoras que impeçam a extração do ácido nucleico alvo e/ou a sua amplificação e deteção. Para as substâncias interferentes conhecidas, consulte a secção “Limitações do procedimento”.

Poderão ser obtidos resultados “Failed” se a amostra contiver coágulos que interfiram com o procedimento de preparação de amostras no cobas® 4800 instrument.

## Lista de alarmes de resultados

A tabela que se segue apresenta uma lista dos alarmes que são relevantes para a interpretação de resultados.

**Tabela 2** Lista de alarmes do teste cobas® MRSA/SA

Teste cobas® MRSA/SA	Teste cobas® MRSA/SA	Relatório e interpretação de resultados
R20	O controlo positivo é inválido.	Um controlo externo é inválido. 1. Repita a corrida inteira com novos reagentes. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
R21	O controlo negativo é inválido.	Um controlo externo é inválido. 1. Repita a corrida inteira com novos reagentes. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
X3	Erro: Foi detetado um coágulo. A amostra não foi processada.	Certifique-se de que as amostras foram manuseadas de acordo com a descrição do fluxo de trabalho. 1. Verifique a amostra quanto a coágulos. 2. Execute novamente a amostra.
X4	Erro: ocorreu um erro de pipetagem. A amostra não foi processada.	O motivo mais provável deverá ser um volume de amostra insuficiente ou um erro mecânico durante a pipetagem. 1. Assegure-se de que há volume de amostra suficiente. 2. Verifique se a placa de ejeção de pontas está colocada corretamente. 3. Execute novamente a amostra.

## Cultura de amostras clínicas

De modo a poder efetuar testes de suscetibilidade antimicrobiana ou de tipagem epidemiológica, podem ser feitas culturas de amostras clínicas a partir do meio de colheita. Para instruções de processamento de culturas, consulte o folheto informativo do sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio COPAN MSwab.

**Nota: O volume de amostra mínimo para executar um teste cobas® MRSA/SA individual é de 700 µl no tubo primário de amostra em meio MSwab. Para evitar contaminação cruzada, recomenda-se que os tubos primários sejam processados no cobas® 4800 System antes de serem removidas alíquotas para culturas bacterianas. Se for necessário remover alíquotas da amostra para fins de cultura antes do teste cobas® MRSA/SA, certifique-se de que pelo menos 700 µl da amostra ainda fica presente e tenha o máximo cuidado ao manusear a amostra. Testar amostras com menos de 700 µl de volume pode originar resultados falsos negativos.**

## Limitações do procedimento

1. O teste cobas® MRSA/SA só foi validado para ser utilizado com amostras de zaragatoas nasais colhidas com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab.
2. A obtenção de resultados fiáveis está dependente da colheita, transporte, armazenamento e processamento adequados das amostras. Siga os procedimentos deste documento de instruções de utilização (também designado como um Folheto informativo), os folhetos informativos do sistema de

colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab e a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.

3. A detecção da MRSA e da SA depende do número de organismos presentes na amostra e poderá ser afetada pelos métodos de colheita da amostra, por fatores inerentes ao próprio doente (por exemplo, a fase da colonização, o histórico de hospitalizações, o regime de tratamento antibiótico, a proximidade a portador MRSA) e/ou as estirpes de MRSA/SA.
4. Devido à interferência de várias substâncias, poderão ocorrer resultados falsos negativos ou inválidos. O controlo interno está incluído no teste **cobas**® MRSA/SA para ajudar a identificar as amostras que contêm substâncias passíveis de interferir com o isolamento do ácido nucleico e a amplificação por PCR. As substâncias interferentes conhecidas incluem, mas não se limitam, às seguintes:
  - As amostras que contêm mais do que 75% (v/v) de sangue por zaragatoa podem gerar resultados falsos negativos. Não processe amostras que tenham cor vermelha escura ou castanha.
  - As amostras que contêm mais do que 10% (p/v) de mucina por zaragatoa podem gerar resultados falsos negativos.
  - As amostras que contêm mais do que 15% (p/v) de gel nasal Rhinaris® por zaragatoa podem gerar resultados falsos negativos.
  - As amostras que contêm mais do que 25% (v/v) de Releev por zaragatoa podem gerar resultados falsos negativos.
5. Um resultado positivo é indicativo da presença de ADN da MRSA mas não necessariamente de organismos viáveis. Por conseguinte, um resultado positivo não significa necessariamente a falha do tratamento de erradicação. Um resultado negativo a seguir a um resultado de teste anteriormente positivo poderá indicar o êxito do tratamento de erradicação ou poderá ocorrer devido a colonização intermitente.
6. O teste **cobas**® MRSA/SA não deteta diretamente o gene *mecA* nem a proteína ligada à penicilina (PBP 2a) codificada por este gene. Poderá ocorrer um resultado falso positivo para a MRSA se estiver presente uma “variante de cassete vazia” da *Staphylococcus aureus*.
7. Mutações ou polimorfismos em regiões de ligação do iniciador ou da sonda poderão afetar a detecção de variantes novas ou desconhecidas, originando um resultado falso negativo com o teste **cobas**® MRSA/SA.
8. O valor previsto de um ensaio depende da prevalência da doença numa determinada população.
9. A adição de enzima AmpErase à Mistura Principal **cobas**® 4800 MRSA/SA permite a amplificação seletiva do ADN alvo; no entanto, para evitar a contaminação dos reagentes e das misturas de amplificação, é necessário observar boas práticas laboratoriais e cumprir cuidadosamente os procedimentos especificados neste documento de instruções de utilização.
10. A utilização deste produto deve estar limitada a pessoal com formação em técnicas de PCR e na utilização do **cobas**® 4800 System.
11. Apenas o **cobas**® x 480 instrument e o **cobas**® z 480 analyzer foram validados para utilização com este produto. Nenhum outro equipamento de preparação de amostras ou sistema de PCR pode ser utilizado com este produto.
12. Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas. Não se prevê uma concordância de cem por cento entre os resultados, devido às diferenças anteriormente referidas entre tecnologias.

13. A contaminação cruzada pode causar resultados falsos positivos. Num estudo não clínico, a taxa de contaminação cruzada de amostra para amostra do teste **cobas**® MRSA/SA no **cobas**® 4800 System foi determinada como sendo de 0%. Não foi observada contaminação cruzada de corrida para corrida.

## Avaliação do desempenho não clínico

### Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (Limite de Detecção ou LoD) do teste **cobas**® MRSA/SA foi determinada por análise quantificada de isolados de cultura da MRSA e da SA, a vários níveis, com pelo menos 61 réplicas por nível. As amostras do teste foram preparadas adicionando a cultura à zaragatoa FLOQ, e depois incubando a zaragatoa numa matriz de zaragatoa nasal simulada. A matriz simulada, composta de mucina e células humanas, imita o efeito do fundo de amostras clínicas nasais no teste **cobas**® MRSA/SA. Todos os membros do painel foram testados utilizando o teste **cobas**® MRSA/SA com três lotes de reagentes do teste **cobas**® MRSA/SA. O LoD para este teste é definido como a concentração do alvo que pode ser detetada como positiva em  $\geq 95\%$  das réplicas testadas, com base nos resultados gerados pelo lote de reagente de pior desempenho.

Num estudo de sensibilidade analítica, foram testados dois isolados da MRSA e um isolado da SA. O LoD do teste **cobas**® MRSA/SA nestes isolados é indicado na Tabela 3.

**Tabela 3** Limite de detecção (LoD) do teste **cobas**® MRSA/SA

Organismo	Origem	ID da Origem	Tipo RE	Tipo SCCmec	Tipo spa	PFGE	Valor MIC	Níveis testados	LoD (CFU/zaragatoa)
MRSA	NARSA	NRS384	2	IVa	t008	USA300-0114	32	9	650
MRSA	ATCC	43300	2	II	t007	Sac-15	N/A	8	700
SA	NARSA	NRS164	N/A	N/A	t084	N/A	N/A	8	700

N/A = Não aplicável

### Detecção de genótipos da MRSA e da SA

Os limites de detecção do teste **cobas**® MRSA/SA em 35 isolados de MRSA e cinco isolados de SA, representando os genótipos comuns (incluindo os tipos 1, 2, 3, 4, 6 de RE, os tipos I, II, III, IV, V, VI e VIII de MRSA SCCmec e os tipos EUA 100 a 1000 de electroforese em gel de campo pulsado (PFGE) de MRSA) foram verificados testando 40 réplicas por nível, a vários níveis. A diversidade genética de MRSA/SA desta colheita abrange os diferentes tipos de SCCmec, de MREJ e de spa (encontrados na espécie *Staphylococcus aureus* com base na sua estrutura filogenética) e as estirpes representativas de vários tipos de PFGE. Foram preparadas diluições e amostras de teste de uma maneira semelhante à descrita anteriormente no estudo do Limite de Detecção (LoD). A Tabela 4 e a Tabela 5 mostram o nível mais baixo em que se observou uma taxa de positividade de pelo menos 95%. Os resultados demonstraram que o teste **cobas**® MRSA/SA deteta corretamente todas as 35 estirpes de MRSA e as cinco estirpes de SA com limite de detecção entre 175 e 750 CFU/zaragatoa. As estirpes detetadas representam pelo menos oito tipos de SCCmec (I, II, III, IV, V, VI, VIII e novo), 10 tipos de MREJ, 21 tipos de spa, nove tipos de PFGE e valores MIC de cefoxitina de 8 a mais de 32.

**Tabela 4** Limite de detecção (LoD) do teste cobas® MRSA/SA em genótipos da MRSA

N.º de isolado de MRSA	Tipo RE	Tipo SCCmec	Tipo spa	Valor MIC	Tipo PFGE	LoD (CFU/zaragatoa)
1	11	novo	t002	>32	Desconhecido	485
2	6	II	t242	>32	Desconhecido	720
3	9/11	novo	t024	16	Desconhecido	175
4	14	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	700
5	25	Desconhecido	t003	>32	Desconhecido	175
6	6	II	t216	>32	USA100	720
7	2	IV	t008	32	USA300	350
8	2	II	t037	32	USA200	700
9	2	IV	t1578	>32	USA300	700
10	2	II	t002	>32	USA100	720
11	2	IV	t008	16	USA800	750
12	2	IV	t008	32	USA300	266
13	2	IV	t064	32	USA500	260
14	2	IV	t148	32	USA700	700
15	2	IV	t688	32	USA800	271
16	2	IV	t688	>32	USA300	700
17	2	II	t042	32	USA100	463
18	2	II	t018	>32	USA200	350
19	2	IV	t008	32	USA300	410
20	2	IV	t008	32	USA300	175
21	2	IV	t5576	32	USA800	202
22	2	II	t004	32	USA600	350
23	2	IV	t216	32	USA1000	350
24	2	IV	t064	32	Ibério	175
25	2	II	t266	>32	USA600	700
26	2	IV	t008	32	USA300	700
27	2	IV	t008	32	USA300	350
28	2	IV	t002	>32	USA800	350
29	3	V	t242	32	USA1000	350
30	24	novo	t476	8	Desconhecido	350
31	1	I	t149	>32	Desconhecido	175
32	3	VIII	Desconhecido	16	Desconhecido	700
33	4	IV	Desconhecido	12	Desconhecido	350
34	2	III	t030	>32	Desconhecido	700
35	25	VI	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	175

**Tabela 5** Limite de detecção (LoD) do teste cobas® MRSA/SA em genótipos da SA

N.º de isolado de SA	Tipo spa	LoD (CFU/zaragatoa)
1	t238	175
2	t018	175
3	t008	175
4	t002	175
5	t088	175

## Inclusividade geográfica

Além dos 37 isolados de MRSA e dos seis isolados de SA incluídos nos estudos de sensibilidade analítica e de inclusividade do genótipo exibidos acima, foram testados 281 isolados de MRSA e 85 isolados de SA colhidos em várias localizações geográficas em concentrações próximas do limite de detecção do teste cobas® MRSA/SA. A colheita de 281 isolados de MRSA de 16 países continha isolados de MRSA de diferentes tipos de SCCmec (I, II, III, IV, IVa, V, VI, VII e novo), 71 tipos de spa e valores MIC de cefoxitina de 6 a mais de 256. A colheita de 85 isolados de SA de locais geograficamente diversificados dentro dos EUA continha isolados de SA de 75 tipos diferentes de spa. O teste cobas® MRSA/SA detetou todos os 85 isolados de SA. Foram detetados 277 dos 281 isolados de MRSA. Os quatro isolados de MRSA não detetados pelo teste cobas® MRSA/SA foram sequenciados, e os resultados sugeriram que as regiões alvo continham sequências não reconhecidas pelos iniciadores ou sondas no teste cobas® MRSA/SA. Um dos quatro isolados era uma estirpe mec ALGA251 (também denominada de mec C). As origens geográficas das colheitas de MRSA estão indicadas na Tabela 6.

**Tabela 6** Inclusividade geográfica do teste cobas® MRSA/SA

Origem geográfica	Número total de isolados da MRSA	Detetados pelo teste cobas® MRSA/SA
Reino Unido	58	58
Alemanha	51	51
Dinamarca	37	36
França	33	31
EUA:	20	20
Espanha	20	20
Suíça	18	18
Japão	15	15
Suécia	7	7
Austrália	6	5
Países Baixos	5	5
Itália	4	4
Bélgica	3	3
Escócia	2	2
Irlanda	1	1
Noruega	1	1
<b>Total</b>	<b>281</b>	<b>277</b>

## Precisão

Foi realizado um estudo de precisão interno com dois isolados de MRSA e um isolado de SA, diluídos numa matriz simulada de zaragatoa nasal, para níveis de concentração abaixo do Limite de Detecção (LoD), perto do LoD e acima do LoD do teste **cobas®** MRSA/SA. Também foi testado um nível negativo composto apenas pela matriz simulada de zaragatoa nasal. O estudo utilizou 3 lotes de reagentes exclusivos do teste **cobas®** MRSA/SA e 3 equipamentos, para um total de 36 corridas num período de tempo de 12 dias. A Tabela 7 apresenta uma descrição dos painéis de precisão e a taxa de positividade do desempenho do estudo. Uma análise da variação dos valores de Ct dos testes efetuados nos membros do painel positivo acima do nível do limite de deteção (ver Tabela 8 e Tabela 9) produziram em geral limites de CV (%) entre 0,8% e 1,3% para o Ct da MRSA e de 1,2% para o Ct da SA.

**Tabela 7** Estudo de precisão interno com análise de taxa de positividade

Membro do painel	Isolado	Concentração do alvo	N.º testados	N.º positivos	Taxa de positividade	IC de 95%	
						Inferior	Superior
1	NRS164 (SA)	< 1 x LoD	71	67	94,4%	86,2%	98,4%
2	NRS164 (SA)	~ 1 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
3	NRS164 (SA)	~ 3 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
4	NRS384 (MRSA)	< 1 x LoD	72	57	79,2%	68,0%	87,8%
5	NRS384 (MRSA)	~ 1 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
6	NRS384 (MRSA)	~ 3 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
7	ATCC43300 (MRSA)	< 1 x LoD	72	63	87,5%	77,6%	94,1%
8	ATCC43300 (MRSA)	~ 1 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
9	ATCC43300 (MRSA)	~ 3 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
10	Nenhuma	Negativo	72	0	0,0%	0,0%	5,0%

**Tabela 8** Análise dos componentes de variação dos membros do painel de precisão acima do limite de deteção

Estirpe	Ct Médio	Componentes de variação/Percentagem de contribuição do total					Total
		Lote	Tamanho do kit	Equipamento	Corrida	Aleatório	
NRS 164 (SA)	35,6	0,050	0,023	0,007	0,032	0,082	0,193
		25,9%	11,7%	3,6%	16,5%	42,3%	100,0%
NRS 384 (MRSA)	36,9	0,057	0,003	0,027	0,057	0,101	0,244
		23,2%	1,2%	11,1%	23,3%	41,2%	100,0%
ATCC 43300	38,0	0,003	0,024	0,007	0,010	0,037	0,082
		4,1%	29,6%	8,9%	12,5%	44,9%	100,0%

**Tabela 9** Análise dos desvios padrão e coeficientes de variação (%) dos membros do painel de precisão

Estirpe	Ct Médio	Componentes do DP/CV (%)					Total
		Lote	Tamanho do kit	Equipamento	Corrida	Aleatório	
NRS164 (SA)	35,6	0,224	0,150	0,084	0,178	0,286	0,440
		0,6%	0,4%	0,2%	0,5%	0,8%	1,2%
NRS 384 (MRSA)	36,9	0,238	0,054	0,165	0,239	0,317	0,494
		0,6%	0,1%	0,4%	0,6%	0,9%	1,3%
ATCC 43300	38,0	0,058	0,156	0,086	0,102	0,192	0,287
		0,2%	0,4%	0,2%	0,3%	0,5%	0,8%

## Inibição competitiva

Os painéis foram construídos tendo como alvos dois isolados da MRSA a uma concentração de 3 x o Limite de Detecção (LoD) do teste **cobas**® MRSA/SA, e isolados competitivos de *Staphylococcus aureus* (SA) e *Staphylococcus epidermidis* resistentes à meticilina (MRSE) a concentrações crescentes. As concentrações crescentes de SA ou MRSE não afectaram a detecção dos alvos MRSA/SA, conforme indicado pelo respetivo valor de Ct relativamente estável (Tabela 10).

**Tabela 10** Estudo de inibição competitiva da MRSA pela SA (valores Ct)

Organismo competitivo (concentração)	Alvo		
	MRSA 10364	MRSA 8065	SA 10851
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (1 x alvo)	38,2	38,8	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (100 x alvo)	38,1	39,1	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (10000 x alvo)	38,4	38,8	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (1 x alvo)	38,1	39,0	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (100 x alvo)	38,5	39,3	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (10000 x alvo)	37,4	39,0	N/A
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (1 x alvo)	37,9	39,5	36,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (100 x alvo)	38,6	38,6	36,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (10000 x alvo)	38,1	39,7	37,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (1 x alvo)	39,0	40,1	36,9
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (100 x alvo)	38,4	39,1	36,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (10000 x alvo)	38,3	39,7	36,7

## Especificidade analítica

Para avaliar a especificidade analítica do teste **cobas**® MRSA/SA, foram testados os seguintes painéis: 1) 92 bactérias, fungos e vírus que poderão ser encontrados em amostras nasais (Tabela 11); 2) células humanas (Tabela 11); 3) 43 *Staphylococcus* de coagulase negativa (CoNS) e *Staphylococcus* resistentes à meticilina e de coagulase negativa (MR-CoNS) (Tabela 12); 4) 10 isolados de SA “borderline” e resistentes à meticilina (BORSA) e dois isolados de SA apenas para a especificidade da MRSA (Tabela 13).

Todas as bactérias e células humanas foram adicionadas a uma concentração de  $1 \times 10^6$  unidades\*/ml ou superior, exceto para a *Chlamydia pneumoniae*, e todos os vírus foram adicionados à concentração mais alta permitida pelos respectivos stocks ( $1 \times 10^5$  unidades\*/ml exceto para adenovírus 1 e Influenza A/H1N1). Os testes foram executados com os organismos sozinhos ou com dois isolados da MRSA e um isolado da SA presentes a 3 x o Limite de Detecção (LoD) do teste **cobas**® MRSA/SA. Os resultados indicaram que nenhum destes organismos interferia com a detecção dos alvos MRSA ou SA pretendidos. Nenhum produziu resultados falsos positivos quando não estava presente qualquer dos alvos MRSA/SA pretendidos.

\*Todas as bactérias foram quantificadas utilizando unidades formadoras de colónias (CFU), exceto as *Chlamydia pneumoniae* que foram quantificadas utilizando cópias de ADN. O metapneumovírus humano foi quantificado em partículas virais. Os vírus adenovírus 1, 7 e 40, enterovírus humano, HSV1, Influenza A/H3N2A/Hong Kong/8/68, vírus do sarampo, vírus da papeira, parainfluenza 1, parainfluenza 2 e parainfluenza 3, coronavírus 229E, coronavírus OC43, citomegalovírus e rinovírus foram todos quantificados na unidade de formação de placas (PFU). O RSV A e o RSV B foram quantificados em unidades TCID<sub>50</sub>. O influenza A/H1N1 e o influenza B foram quantificados em unidades EID<sub>50</sub>. O EBV foi quantificado em cópias.

**Tabela 11** Microrganismos frequentemente encontrados em flora nasal testados relativamente a especificidade analítica

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Bordetella bronchioseptica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (prodúz KPC) ATCC # 700603	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (prodúz KPC) ATCC # BAA1900	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Leifsonia aquatica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Adenovirus 40</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Microbacterium testaceum</i>	<i>Coronavirus 229E</i>
<i>Chlamydia pneumoniae*</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Coronavirus OC43</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Citomegalovirus</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis avirulento</i>	<i>Virus de Epstein Barr</i>
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>HSV 1</i>
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Mycoplasma salivarium</i>	<i>Adenovirus humano tipo 1*</i>
<i>Corynebacterium flavescens</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Adenovirus humano tipo 7A</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Parvimonas micra</i>	<i>Enterovirus humano 71</i>
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Pasteurella aerogenes</i>	<i>Metapneumovirus humano</i>
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Planococcus maritimus</i>	<i>Influenza A/H1N1</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Influenza A/H3N2 A/ Hong Kong/8/68</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Influenza B</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Virus do sarampo</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Virus da parotidite infecciosa</i>
<i>Enterococcus flavescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Parainfluenza 1</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Rhodococcus equi</i>	<i>Parainfluenza 2</i>
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Rothia mucilaginosa</i>	<i>Parainfluenza 3</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica subespécie Enterica</i>	<i>Rinovirus tipo 1A</i>
<i>Fingoldia magna</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>RSV A</i>
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>RSV B</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Células HCT-15 (ADN genómico humano)</i>

\* *Chlamydia pneumoniae* foi testada a  $1,0 \times 10^5$  cópias/ml e o adenovirus tipo 1 a  $1,0 \times 10^4$  PFU/ml.

**Tabela 12** Organismos estreitamente relacionados CoNS e MR-CoNS testados relativamente a especificidade

<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC27676 (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
<i>Staphylococcus auricularis</i> (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>
<i>Staphylococcus caprae</i> (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus felis</i>	<i>Staphylococcus pulvereri</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Staphylococcus carnosus</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC29970	<i>Staphylococcus schleiferi</i>
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC29968 (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC43252	<i>Staphylococcus simulans</i> ATCC27848 (resistente à meticilina)
<i>Staphylococcus delphini</i>	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC25615	<i>Staphylococcus simulans</i> ATCC11631
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC14990 (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC35982	<i>Staphylococcus warneri</i> ATCC27836 (resistente à meticilina)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35547 (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC27844	<i>Staphylococcus warneri</i> ATCC27839 (resistente à meticilina)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35983 (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC27845	<i>Staphylococcus warneri</i> RMSCC1224
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35984 (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i> ATCC35663
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC51624 (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus kloosii</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i> ATCC29971
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC51625 (resistente à meticilina)	<i>Staphylococcus lentus</i>	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC700583	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	-

**Tabela 13** Isolados de SA e BORSA testados relativamente a especificidade da MRSA

<i>Staphylococcus aureus</i> 10851	<i>Staphylococcus aureus</i> 10323 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852	<i>Staphylococcus aureus</i> 10324 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10319 (BORSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> 10325 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10320 (BORSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> 10326 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10321 (BORSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> 10327 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10322 (BORSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> 10328 (BORSA)

## Interferência

Foram testados 25 medicamentos frequentemente utilizados para o nariz ou para a garganta, assim como sangue total e mucina, relativamente aos efeitos de uma possível interferência com o teste **cobas**® MRSA/SA. Todas as substâncias foram testadas a níveis acima do que seria razoavelmente esperado de ser colhido numa zaragatoa de uma amostra nasal. A quantidade de substância interferente é expressa como uma percentagem da quantidade máxima que uma zaragatoa pode absorver ou transportar. Foram adicionados 2 isolados de MRSA e 1 isolado de SA numa concentração de 3 x o Limite de Detecção (LoD) do teste **cobas**® MRSA/SA e usados como alvos nos testes. Não foi observada qualquer interferência até 100% da capacidade da zaragatoa para substâncias exógenas, exceto para o Relenza® (nenhuma interferência até 6,25% da capacidade da zaragatoa), o gel nasal Rhinaris® (nenhuma interferência até 15% da zaragatoa) e o Releev (nenhuma interferência até 25% da zaragatoa). Tenha em atenção que o Relenza® foi testado apenas até 6,25% da capacidade da zaragatoa porque isto já representa a quantidade total de uma aplicação normal do fármaco de acordo com a informação da prescrição. Para sangue total, não foi observada qualquer interferência até 75% da capacidade da zaragatoa e, para mucina, não foi observada qualquer interferência até 10% da capacidade da zaragatoa. Estes resultados estão indicados na Tabela 14.

**Tabela 14** Resultados de testes com substâncias interferentes

Substância	Resultados
Sangue total	Sem interferência até 75% da capacidade
Mucina	Sem interferência até 10% da capacidade
Spray nasal Afrin	Sem interferência
Spray nasal Beconase	Sem interferência
Pomada nasal Bepanthen®	Sem interferência
Pastilhas para dores de garganta Chloraseptic Max	Sem interferência
Spray nasal Fluticasone Propionate (50 µg)	Sem interferência
FluMist® (Afluria, vacina da gripe)	Sem interferência
Solução nasal Flunisolide USP, 0,025%	Sem interferência
Pomada de mupirocina	Sem interferência
Nebulizador nasal Dristan™	Sem interferência
Luffeel™	Sem interferência
Spray nasal Triamcinolone Acetonide	Sem interferência
Spray nasal NasalCrom	Sem interferência
Spray nasal Nasonex	Sem interferência
Neo sinefrina	Sem interferência
Spray nasal Otrivine	Sem interferência
Relenza®	Sem interferência até 6,25% da capacidade*
Suspensão para inalação Budesonida 0,25 mg/2 ml	Sem interferência
Solução nasal azelastina HCl	Sem interferência
Spray hidratante nasal Equate Saline	Sem interferência
Gel nasal Rhinaris®	Sem interferência até 15% da capacidade
Solução oftálmica de tobramicina e dexametasona	Sem interferência
Releev (para aftas na boca)	Sem interferência até 25% da capacidade
Gel nasal Zicam	Sem interferência
Aerossol para inalação QVAR (40 µg)	Sem interferência
Nostrilla	Sem interferência

\* Esta concentração representa a quantidade total de Relenza® que seria aplicada numa única aplicação de acordo com a informação da prescrição.

## Desempenho clínico com amostras clínicas

O desempenho do teste **cobas**® MRSA/SA foi comparado a um teste de ácidos nucleicos (NAT), comparável e “State-of-the-Art”, de marca CE e aprovado pela FDA, utilizando como método de referência uma combinação de cultura bacteriana direta e enriquecida. De cada indivíduo registado no estudo, foram colhidas duas amostras nasais. A amostra para o teste **cobas**® MRSA/SA foi colhida com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab, e a amostra para o teste comparável foi colhida com zaragatoas Liquid Stuart. A amostra em MSwab foi utilizada para inocular uma placa de meio cromogénico seletivo e uma placa de meio cromogénico diferencial para MRSA e para SA (cultura direta), assim como um tubo com meio Typticase Soya Broth (TSB) com 6,5% de NaCl para enriquecimento de um dia para o outro (cultura enriquecida). A cultura enriquecida foi então semeada em placas com meio cromogénico. As colónias das placas com meio cromogénico presumidamente positivas para a SA foram confirmadas por um teste de aglutinação em latex (Staphraurex®, Remel Microbiology Products, Thermo Scientific, Inc.). As colónias presumidamente MRSA foram adicionalmente confirmadas pelo teste de difusão do disco de cefoxitina (Resistência à Cefoxitina).

Um total de 383 indivíduos foram registados a partir de 2 localizações na UE. Foram excluídos 4 indivíduos devido a resultados incompletos para um dos testes. Foram obtidos 27 resultados positivos para a MRSA e 144 amostras positivas para a SA por combinação de cultura direta e enriquecida (prevalência: MRSA 7,1%, SA 38,0%). A Tabela 15 apresenta o desempenho do teste **cobas**® MRSA/SA e do teste de ácidos nucleicos (NAT) comparável, relativamente a cultura direta.

**Tabela 15** Teste **cobas**® MRSA/SA e teste de ácidos nucleicos (NAT) comparável, versus cultura direta

MRSA		Cultura direta	
		Positivo	Negativo
<b>cobas</b> ® MRSA/SA	<b>Positivo</b>	<b>15</b>	<b>18</b>
	<b>Negativo</b>	<b>1</b>	<b>345</b>
	Estimativa	95% CI LL	95% CI UL
<b>Sensibilidade</b>	94%	70%	100%
<b>Especificidade</b>	95%	92%	97%

SA		Cultura direta	
		Positivo	Negativo
<b>cobas</b> ® MRSA/SA	<b>Positivo</b>	<b>121</b>	<b>29</b>
	<b>Negativo</b>	<b>5</b>	<b>224</b>
	Estimativa	95% CI LL	95% CI UL
<b>Sensibilidade</b>	96%	91%	99%
<b>Especificidade</b>	89%	84%	92%

MRSA		Cultura direta	
		Positivo	Negativo
<b>NAT</b> comparável	<b>Positivo</b>	<b>14</b>	<b>16</b>
	<b>Negativo</b>	<b>2</b>	<b>347</b>
	Estimativa	95% CI LL	95% CI UL
<b>Sensibilidade</b>	88%	62%	98%
<b>Especificidade</b>	96%	93%	97%

SA		Cultura direta	
		Positivo	Negativo
<b>NAT</b> comparável	<b>Positivo</b>	<b>122</b>	<b>31</b>
	<b>Negativo</b>	<b>4</b>	<b>222</b>
	Estimativa	95% CI LL	95% CI UL
<b>Sensibilidade</b>	97%	92%	99%
<b>Especificidade</b>	88%	83%	92%

A Tabela 16 apresenta o desempenho do teste **cobas**® MRSA/SA e do teste de ácidos nucleicos (NAT) comparável, relativamente a cultura direta/enriquecida. Nesta análise, é considerado positivo tanto um resultado positivo por cultura direta como um resultado positivo por cultura enriquecida. Só pode ser obtido um resultado negativo se forem negativos ambos os resultados de cultura direta e cultura enriquecida.

**Tabela 16** Teste cobas® MRSA/SA e teste de ácidos nucleicos (NAT) comparável, versus cultura direta/enriquecida

MRSA		Cultura direta/enriquecida	
		Positivo	Negativo
cobas® MRSA/SA	Positivo	25	8
	Negativo	2	344
		Estimativa	95% CI LL 95% CI UL
<b>Sensibilidade</b>		93%	76% 99%
<b>Especificidade</b>		98%	96% 99%

SA		Cultura direta/enriquecida	
		Positivo	Negativo
cobas® MRSA/SA	Positivo	137	13
	Negativo	7	222
		Estimativa	95% CI LL 95% CI UL
<b>Sensibilidade</b>		95%	90% 98%
<b>Especificidade</b>		94%	91% 97%

MRSA		Cultura direta/enriquecida	
		Positivo	Negativo
NAT comparável	Positivo	24	6
	Negativo	3	346
		Estimativa	95% CI LL 95% CI UL
<b>Sensibilidade</b>		89%	71% 98%
<b>Especificidade</b>		98%	96% 99%
<b>NPV</b>		99%	98% 100%
<b>PPV</b>		80%	61% 92%

SA		Cultura direta/enriquecida	
		Positivo	Negativo
NAT comparável	Positivo	138	15
	Negativo	6	220
		Estimativa	95% CI LL 95% CI UL
<b>Sensibilidade</b>		96%	91% 98%
<b>Especificidade</b>		94%	90% 96%
<b>NPV</b>		97%	94% 99%
<b>PPV</b>		90%	84% 94%

Finalmente, a Tabela 17 apresenta o desempenho do teste cobas® MRSA/SA em comparação direta a um teste de ácidos nucleicos (NAT), comparável e “State-of-the-Art”, de marca CE e aprovado pela FDA.

**Tabela 17** Teste cobas® MRSA/SA em comparação com teste comparável de ácidos nucleicos (NAT)

MRSA		NAT comparável	
		Positivo	Negativo
cobas® MRSA/SA	Positivo	28	5
	Negativo	2	344
		Estimativa	95% CI LL 95% CI UL
<b>Concordância positiva</b>		93%	78% 99%
<b>Concordância negativa</b>		99%	97% 100%

SA		NAT comparável	
		Positivo	Negativo
cobas® MRSA/SA	Positivo	144	6
	Negativo	9	220
		Estimativa	95% CI LL 95% CI UL
<b>Concordância positiva</b>		94%	89% 97%
<b>Concordância negativa</b>		97%	94% 99%

## Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do cobas® MRSA/SA Test no cobas® 4800 System foi estabelecida numa investigação em vários locais utilizando amostras clínicas artificiais que foram avaliadas considerando o lote, o local/equipamento, o operador, o dia e a corrida.

Os painéis do teste de reprodutibilidade da MRSA/SA foram preparados adicionando as estirpes NRS384 (MRSA-384) e ATCC 43300 (MRSA-43300) da MRSA, ou a estirpe RMSCC 10851 da SA a uma matriz de amostra artificial (amostras nasais clínicas simuladas em MSwab com mucina e células epiteliais humanas) a uma de 3 concentrações (abaixo do LoD, 1 × LoD e 3 × LoD); foi incluído um membro do painel negativo para MRSA/SA como um controlo de membros do painel. Ao todo, foram incluídas em cada corrida 10 membros por painel de teste com 3 réplicas por membro do painel. Os painéis foram testados em 3 locais por 2 operadores por local, com 1 corrida por operador por dia, para 5 dias por lote, em 2 lotes para um total de 1800 testes (180 testes/membro do painel ou 90 testes/membro do painel/lote). No total, foram executadas 60 corridas e todas elas foram válidas. Não ocorreram testes falhados/inválidos.

## Resultados de reprodutibilidade da MRSA

A Tabela 18 apresenta um resumo dos resultados de reprodutibilidade da MRSA para valores de Ct e a concordância na percentagem (intervalo de confiança bilateral exato de 95%) por local e membro do painel. A concordância na percentagem de positivos para os membros do painel positivos para a MRSA, “MRSA-384 abaixo do LoD” e “MRSA-43300 abaixo do LoD,” foi de 85,6% (IC de 95%: 79,6% a 90,3%) e de 87,2% (IC de 95%: 81,4% a 91,7%), respetivamente; a concordância na percentagem de positivos para todos os outros membros do painel positivos para a MRSA foi de 100,0% (IC de 95%: 98,0% a 100,0%). O DP total e o CV (%) total dos valores de Ct para todos os membros do painel positivos para a MRSA foram ≤ 0,51% e ≤ 1,4%, respetivamente.

**Tabela 18** Resumo de resultados de reprodutibilidade da MRSA – valores de Ct e concordância na percentagem por local e membro do painel

Membro do painel	Resultados de teste válidos (n)	Ct			Concordância na percentagem por local (n/N) <sup>a</sup>			Concordância total	
		Média	DP	CV (%)	1	2	3	Percentagem (n/N)	(IC de 95%) <sup>b</sup>
Negativo	180	N/A	N/A	N/A	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
MRSA-384 abaixo do LoD	180	40,3	0,43	1,1	95,0 (57/60)	83,3 (50/60)	78,3 (47/60)	85,6% (154/180)	(79,6%, 90,3%)
1 × LoD MRSA-384	180	38,0	0,49	1,3	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
3 × LoD MRSA-384	180	36,3	0,44	1,2	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
MRSA-43300 abaixo do LoD	180	40,4	0,40	1,0	91,7 (55/60)	81,7 (49/60)	88,3 (53/60)	87,2% (157/180)	(81,4%, 91,7%)
1 × LoD MRSA-43300	180	38,9	0,45	1,1	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
3 × LoD MRSA-43300	180	37,4	0,51	1,4	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)

<sup>a</sup> Para o membro do painel negativo, a concordância na percentagem = (número de resultados negativos ÷ total de resultados válidos) × 100; para os membros do painel positivo, a concordância na percentagem = (número de resultados positivos ÷ total de resultados válidos) × 100.

<sup>b</sup> IC de 95% = intervalo de confiança binomial e bilateral exato de 95%.

IC = intervalo de confiança; Ct = limite do ciclo; CV = coeficiente de variação; LoD = limite de deteção; MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; MRSA-384 = estirpe NRS384 da *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; MRSA-43300 = estirpe ATCC 43300 da *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; N/A = não aplicável; SA = *Staphylococcus aureus*.

A Tabela 19 apresenta o DP e o CV (%) dos valores de Ct dos membros do painel positivos para a MRSA no geral e atribuíveis ao lote, local/equipamento, operador, dia e dentro da corrida.

**Tabela 19** Média geral, desvios padrão e coeficientes de variação (%) de valores de Ct de resultados válidos para membros do painel positivos – MRSA

MRSA			Desvio padrão e Percentagem do coeficiente de variação											
			Lote		Local/equip.		Operador		Dia		Dentro da corrida		Total	
Membro do painel	N	Ct médio	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV
MRSA-384 abaixo do LoD	154	40,3	0,00	0,0%	0,06	0,2%	0,00	0,0%	0,23	0,6%	0,36	0,9%	0,43	1,1%
1 × LoD MRSA-384	180	38,0	0,07	0,2%	0,18	0,5%	0,00	0,0%	0,17	0,5%	0,41	1,1%	0,49	1,3%
3 × LoD MRSA-384	180	36,3	0,12	0,3%	0,20	0,6%	0,02	0,1%	0,15	0,4%	0,35	1,0%	0,44	1,2%
MRSA-43300 abaixo do LoD	157	40,4	0,03	0,1%	0,07	0,2%	0,06	0,1%	0,02	0,0%	0,39	1,0%	0,40	1,0%
1 × LoD MRSA-43300	180	38,9	0,00	0,0%	0,11	0,3%	0,00	0,0%	0,19	0,5%	0,39	1,0%	0,45	1,1%
3 × LoD MRSA-43300	180	37,4	0,13	0,4%	0,24	0,6%	0,12	0,3%	0,10	0,3%	0,40	1,1%	0,51	1,4%

Ct = limite do ciclo; CV = coeficiente de variação; equip. = equipamento; LoD = limite de detecção; MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; MRSA-384 = estirpe NRS384 da *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; MRSA-43300 = estirpe ATCC 43300 da *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; DP = desvio padrão.

## Resultados de reprodutibilidade da SA

A Tabela 20 apresenta um resumo dos resultados de reprodutibilidade da SA para valores de Ct e a concordância na percentagem (intervalo de confiança bilateral exato de 95%) por local e membro do painel. A concordância na percentagem de positivos para os membros do painel positivos para a SA, “SA abaixo do LoD”, “SA 1 × LoD” e “SA 3 × LoD” foi de 50,0% (IC de 95%: 42,5% a 57,5%), 99,4% (IC de 95%: 96,9% a 100,0%) e 100,0% (IC de 95%: 98,0% a 100,0%), respectivamente. O DP total e o CV (%) total dos valores de Ct para todos os membros do painel positivos para a SA foram ≤ 0,49% e ≤ 1,3%, respectivamente. A concordância na percentagem de negativos para os membros do painel negativos para a MRSA/SA foi de 100,0% (IC de 95%: 98,0 a 100,0%).

**Tabela 20** Resumo de resultados de reprodutibilidade da SA – valores de Ct e concordância na percentagem por local e membro do painel

Membro do painel	Resultados de teste válidos (n)	Ct			Concordância na percentagem por local (n/N) <sup>a</sup>			Concordância total	
		Média	DP	CV (%)	1	2	3	Percentagem (n/N)	(IC de 95%) <sup>b</sup>
Negativo	180	N/A	N/A	N/A	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
SA abaixo do LoD	180	38,6	0,46	1,2	23,3 (14/60)	60,0 (36/60)	66,7 (40/60)	50,0% (90/180)	(42,5%, 57,5%)
1 × LoD SA	180	36,8	0,49	1,3	100,0 (60/60)	98,3 (59/60)	100,0 (60/60)	99,4% (179/180)	(96,9%, 100,0%)
3 × LoD SA	180	35,1	0,38	1,1	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)

<sup>a</sup> Para o membro do painel negativo, a concordância na percentagem = (número de resultados negativos ÷ total de resultados válidos) × 100; para os membros do painel positivo, a concordância na percentagem = (número de resultados positivos ÷ total de resultados válidos) × 100.

<sup>b</sup> IC de 95% = intervalo de confiança binomial e bilateral exato de 95%.

IC = intervalo de confiança; Ct = limite do ciclo; CV = coeficiente de variação; LoD = limite de deteção; N/A = não aplicável; SA = *Staphylococcus aureus*.

A Tabela 21 apresenta o DP e o CV (%) dos valores de Ct dos membros do painel positivos para a SA no geral e atribuíveis ao lote, local/equipamento, operador, dia e dentro da corrida.

**Tabela 21** Média geral, desvios padrão e coeficientes de variação (%) de valores de Ct de resultados válidos para membros do painel positivos – SA

SA			Desvio padrão e Percentagem do coeficiente de variação											
			Lote		Local/equip.		Operador		Dia		Dentro da corrida		Total	
Membro do painel	N	Ct médio	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV
SA abaixo do LoD	90	38,6	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,46	1,2%	0,46	1,2%
1 × LoD SA	179	36,8	0,14	0,4%	0,29	0,8%	0,13	0,3%	0,16	0,4%	0,31	0,8%	0,49	1,3%
3 × LoD SA	180	35,1	0,11	0,3%	0,14	0,4%	0,12	0,3%	0,02	0,1%	0,31	0,9%	0,38	1,1%

Ct = limite do ciclo; CV = coeficiente de variação; LoD = limite de deteção; SA = *Staphylococcus aureus*; DP = desvio padrão.

## Desempenho clínico

O desempenho clínico do **cobas**® MRSA/SA Test foi estabelecido numa investigação prospetiva aprovada pelo IRB em vários locais, comparando os resultados com a cultura cromogénea direta e com a combinação da cultura cromogénea direta e a cultura enriquecida, utilizando exsudados nasais de sujeitos masculinos e femininos elegíveis.

As amostras foram colhidas em 6 locais geográficos diferentes dos EUA. De cada sujeito foi colhida uma ou duas amostras de exsudados; um exsudado foi colhido para testes de cuidados padrão (se aplicável) e o outro exsudado, um MSwab (Copan Flock Technologies Srl., Brescia, Itália), foi colhido para o **cobas**® MRSA/SA Test e para cultura direta e enriquecida.

O **cobas**® MRSA/SA Test foi executado em 3 locais e a cultura direta e enriquecida foi executada num laboratório de referência especializado em cultura e deteção molecular de MRSA e SA resistentes à metilina. Resumidamente, uma alíquota de 100 µl de uma amostra em MSwab de cada sujeito foi transferida diretamente para uma placa de meio cromogéneo seletivo e diferencial para MRSA e para SA (cultura direta), e para um tubo com caldo tríptico de soja (TSB) com 6,5% de NaCl (cultura de enriquecimento). Isolados suspeitos e culturas de caldo de enriquecimento positivo foram sub-colocados em cultura em ágar de sangue de ovelha a 5% e isolados identificados como SA por testes de coloração de Gram e de aglutinação em látex. Isolados MRSA putativos foram confirmados utilizando um teste de difusão do disco de cefoxitina de Kirby-Bauer para a resistência à metilina.

Uma amostra positiva de cultura de MRSA/SA foi definida como uma amostra positiva para a MRSA/SA por técnica de cultura direta ou de cultura de enriquecimento. Uma amostra negativa de cultura de MRSA/SA foi definida como uma amostra negativa para a MRSA/SA tanto para cultura direta como para cultura de enriquecimento.

Foi executada uma análise de discrepância em todas as amostras com resultados discordantes e num subgrupo de amostras com resultados concordantes, selecionadas aleatoriamente e incluídas como controlos, entre o **cobas**® MRSA/SA Test e a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento, utilizando um segundo teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) aprovado pela FDA e uma cultura não seletiva direta e de enriquecimento. Resumidamente, uma alíquota de 100 µl de amostra em Mswab remanescente foi transferida para uma placa de ágar de chocolate (cultura direta não seletiva) e uma segunda alíquota de 100 µl foi transferida para caldo tríptico de soja (TSB) sem NaCl (cultura de enriquecimento não seletiva). Isolados recuperados de cultura não seletiva direta e de enriquecimento foram caracterizadas conforme descrito; além disso, foi confirmada a identificação de isolados atípicos suspeitos utilizando um teste de PCR desenvolvido em laboratório para os genes *femA* e *mecA* de acordo com a prática estabelecida pelo laboratório de referência.

## Resultados

Foram colhidas amostras de 2528 sujeitos, com 2504 (99,1%) resultados avaliáveis de 1372 sujeitos masculinos (54,8%) e de 1132 sujeitos femininos (45,2%). A maioria dos sujeitos tinham > 50 anos de idade (67,2%) e no intervalo de idades entre 18 e 101 (idade mediana = 57). Houve um total de 160 amostras positivas para a MRSA e 660 amostras positivas para a SA.

### Desempenho do cobas® MRSA/SA Test comparado com a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento (método de referência)

O desempenho do cobas® MRSA/SA Test comparado com a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento de 2500 resultados avaliáveis para a MRSA e de 2501 resultados avaliáveis para a SA, é apresentado na Tabela 22.

A sensibilidade e especificidade para a MRSA comparado com a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento foi de 93,1% (149/160) e 97,5% (2281/2340), respectivamente; e a prevalência, o VPP e o VPN foi de 6,4%, 71,6% e 99,5%, respectivamente.

A sensibilidade e especificidade para a SA comparado com a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento foi de 93,9% (620/660) e 94,2% (1734/1841), respectivamente; e a prevalência, o VPP e o VPN foi de 26,4%, 85,3% e 97,7%, respectivamente.

**Tabela 22** Comparação de resultados do cobas® MRSA/SA Test com a cultura direta e de enriquecimento (método de referência)

		Cultura direta e de enriquecimento (método de referência)					
		MRSA			SA		
		Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total
<b>Teste cobas® MRSA/SA</b>	Positivo	149	59	208	620	107	727
	Negativo	11	2281	2292	40	1734	1774
	Total	160	2340	2500	660	1841	2501
<p style="text-align: center;">MRSA</p> <p>Sensibilidade: 93,1% (149/160) (IC de 95%: 88,1-96,1%)</p> <p>Especificidade: 97,5% (2281/2340) (IC de 95%: 96,8-98,0%)</p> <p>Prevalência: 6,4%</p> <p>VPP: 71,6%</p> <p>VPN: 99,5%</p> <p style="text-align: center;">SA</p> <p>Sensibilidade: 93,9% (620/660) (IC de 95%: 91,9-95,5%)</p> <p>Especificidade: 94,2% (1734/1841) (IC de 95%: 93,0-95,2%)</p> <p>Prevalência: 26,4%</p> <p>VPP: 85,3%</p> <p>VPN: 97,7%</p>							

Nota: os sujeitos com resultados válidos do cobas® MRSA/SA Test e de cultura direta, são considerados avaliáveis e estão incluídos nesta tabela.

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente a metilina; VPN = valor preditivo de negativos; VPP = valor preditivo de positivos; SA = *Staphylococcus aureus*.

### Comparação de resultados do cobas® MRSA/SA Test com a cultura direta

Resultados do cobas® MRSA/SA Test foram comparados com a cultura direta, a partir de 2504 resultados avaliáveis e são apresentados na Tabela 23.

A concordância na percentagem geral, na percentagem de positivos e na percentagem de negativos do cobas® MRSA/SA Test para a MRSA quando comparada com a cultura direta foi de 96,9% (2427/2504), 97,1% (135/139) e 96,9% (2292/2365), respectivamente; e a prevalência foi de 5,6%.

A concordância na percentagem geral, na percentagem de positivos e na percentagem de negativos do cobas® MRSA/SA Test para a SA quando comparada com a cultura direta foi de 93,3% (2336/2504), 97,0% (577/595) e 92,1% (1759/1909), respectivamente; e a prevalência foi de 23,8%.

**Tabela 23** Comparação de resultados do cobas® MRSA/SA Test com a cultura direta

		Cultura direta					
		MRSA			SA		
		Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total
Teste cobas® MRSA/SA	Positivo	135	73	208	577	150	727
	Negativo	4	2292	2296	18	1759	1777
	Total	139	2365	2504	595	1909	2504
MRSA							
Concordância na percentagem de positivos: 97,1% (135/139) (IC de 95%: 92,8-98,9%)							
Concordância na percentagem de negativos: 96,9% (2292/2365) (IC de 95%: 96,1-97,5%)							
Concordância na percentagem geral: 96,9% (2427/2504) (IC de 95%: 96,2-97,5%)							
Prevalência: 5,6%							
SA							
Concordância na percentagem de positivos: 97,0% (577/595) (IC de 95%: 95,3-98,1%)							
Concordância na percentagem de negativos: 92,1% (1759/1909) (IC de 95%: 90,8-93,3%)							
Concordância na percentagem geral: 93,3% (2336/2504) (IC de 95%: 92,2-94,2%)							
Prevalência: 23,8%							

Nota: os sujeitos com resultados válidos do cobas® MRSA/SA Test e de cultura direta, são considerados avaliáveis e estão incluídos nesta tabela.

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; SA = *Staphylococcus aureus*.

### Análise de discrepância de amostras discordantes e concordantes

Foi executada uma análise de discrepância em todas as amostras discordantes (Tabela 22) e num subgrupo aleatório de amostras concordantes incluídas como controlos, entre o cobas® MRSA/SA Test e a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento (método de referência), utilizando um segundo teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) aprovado pela FDA e uma cultura não seletiva direta e de enriquecimento.

Ocorreu um total de 70 amostras com resultados discordantes quanto à MRSA: 11 resultados falsos negativos para a MRSA e 59 resultados falsos positivos para a MRSA (Tabela 22). Das 11 amostras falso negativas para a MRSA, 5 testaram negativas para a MRSA -por um segundo método NAAT e por cultura não seletiva direta e de enriquecimento. Das 59 amostras falso positivas para a MRSA, 20 testaram positivas para a MRSA -por um segundo método NAAT ou por cultura não seletiva direta e/ou de enriquecimento.

Ocorreu um total de 147 amostras com resultados discordantes quanto à SA: 40 resultados falsos negativos para a SA e 107 resultados falsos positivos para a SA (Tabela 22). Das 40 amostras falso negativas para a SA, 31 testaram negativas para a SA -por um segundo método NAAT e por cultura não seletiva direta e de enriquecimento. Das 107 amostras falso positivas para a SA, 24 testaram positivas para a SA -por um segundo método NAAT ou por cultura não seletiva direta e/ou de enriquecimento.

Foram incluídas como controlos na análise de discrepância 74 amostras concordantes selecionadas aleatoriamente: 25 amostras concordantes positivas para a MRSA, 25 negativas para a SA e 24 positivas para a SA/negativas para a MRSA. Dos 74 controlos, todas as 25 amostras positivas para a MRSA testaram positivas para a MRSA por um segundo método NAAT ou por cultura não seletiva direta e/ou de enriquecimento; todas as 25 amostras negativas para a SA testaram negativas para a SA por um segundo método NAAT e por cultura não seletiva direta e de enriquecimento; e, das 24 amostras positivas para a SA, 21 testaram positivas para a SA por um segundo método NAAT ou por cultura não seletiva direta

e/ou de enriquecimento, 1 testou positiva para a MRSA por cultura não seletiva de enriquecimento, e 2 testaram negativas para a SA por um segundo método NAAT e por cultura não seletiva direta e de enriquecimento.

## Valores esperados

### Prevalência

A prevalência do portador nasal da MRSA e da SA depende de uma variedade de fatores, incluindo residência numa instituição de cuidados de saúde de longo prazo, colonização ou infecção pela MRSA anterior, diabetes melito, contacto próximo com um portador de MRSA/SA e utilização anterior de antibióticos. A prevalência geral da MRSA e da SA observada com o **cobas**® MRSA/SA Test comparada com a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento durante um estudo clínico em vários centros foi de 6,4% e de 26,4%, respetivamente.

### Valores preditivos hipotéticos de positivos e de negativos do cobas® MRSA/SA Test para a MRSA

Os valores preditivos hipotéticos de positivos e de negativos (VPP e VPN) derivados de taxas do portador de 1 a 30% do **cobas**® MRSA/SA Test para a MRSA são indicados na Tabela 24. A sensibilidade e a especificidade do **cobas**® MRSA/SA Test em comparação com a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento (referência) da MRSA foi de 93,1% e de 97,5%, respetivamente.

**Tabela 24** Valores preditivos hipotéticos de positivos e de negativos da MRSA derivados da prevalência do portador nasal

Prevalência (%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)
1	93,1%	97,5%	27,2%	99,9%
5	93,1%	97,5%	66,0%	99,6%
10	93,1%	97,5%	80,4%	99,2%
15	93,1%	97,5%	86,7%	98,8%
20	93,1%	97,5%	90,2%	98,3%
25	93,1%	97,5%	92,5%	97,7%
30	93,1%	97,5%	94,1%	97,1%

Nota: a sensibilidade e a especificidade foram estabelecidas comparando os resultados do **cobas**® MRSA/SA Test com a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento de amostras de exsudados nasais de pacientes testados para a colonização da MRSA ou da SA.

VPN = valor preditivo de negativos, VPP = valor preditivo de positivos.

**Valores preditivos hipotéticos de positivos e de negativos do cobas® MRSA/SA Test para a SA**

Os valores preditivos hipotéticos de positivos e de negativos (VPP e VPN) derivados de taxas do portador de 1 a 30% do cobas® MRSA/SA Test para a SA são indicados na Tabela 25. A sensibilidade e a especificidade do cobas® MRSA/SA Test em comparação com a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento (referência) da SA foi de 93,9% e de 94,2%, respectivamente.

**Tabela 25** Valores preditivos hipotéticos de positivos e de negativos da SA derivados da prevalência do portador nasal

Prevalência (%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)
1	93,9%	94,2%	14,0%	99,9%
5	93,9%	94,2%	46,0%	99,7%
10	93,9%	94,2%	64,2%	99,3%
15	93,9%	94,2%	74,0%	98,9%
20	93,9%	94,2%	80,2%	98,4%
25	93,9%	94,2%	84,3%	97,9%
30	93,9%	94,2%	87,4%	97,3%

Nota: a sensibilidade e a especificidade foram estabelecidas comparando os resultados do cobas® MRSA/SA Test com a combinação de cultura direta e cultura de enriquecimento de amostras de exsudados nasais de pacientes testados para a colonização da MRSA ou da SA.

VPN = valor preditivo de negativos, VPP = valor preditivo de positivos.

## Informações adicionais





















































### Características principais do ensaio

<b>Tipo de amostra</b>	Zaragatoa nasal
<b>Quantidade de amostra necessária</b>	Para um teste <b>cobas</b> ® MRSA/SA é necessário um mínimo de 700 µl em 1,6 ml de meio MSwab num frasco primário.
<b>Duração do teste</b>	Os resultados ficam disponíveis no prazo de 2,5 horas após o carregamento da amostra no sistema (1 a 22 amostras).
<b>Sensibilidade analítica</b>	De 175 CFU/zaragatoa a 750 CFU/zaragatoa, consoante o isolado.
<b>Especificidade</b>	Nenhuma reatividade cruzada com 147 organismos estreitamente relacionados ou organismos geralmente presentes em amostras nasais.
<b>Inclusividade</b>	Foram testados e detetados no total 314 isolados de MRSA e 91 isolados de SA de 16 países, representando pelo menos 7 tipos de SCCmec, 10 tipos de RE e 71 tipos de spa.

## Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados em todas as etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

**Tabela 26** Símbolos utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

 <b>Age/DOB</b>	Idade ou data de nascimento		Dispositivo não para testes efetuados próximo dos pacientes	 <b>QS IU/PCR</b>	UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
 <b>SW</b>	Software auxiliar		Dispositivo não para autotestes	 <b>SN</b>	Número de série
 <b>Assigned Range [copies/mL]</b>	Intervalo atribuído (cópias/ml)		Distribuidor <i>(Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)</i>	 <b>Site</b>	Centro
 <b>Assigned Range [IU/mL]</b>	Intervalo atribuído (UI/ml)		Não reutilizar	 <b>Procedure Standard</b>	Procedimento padrão
 <b>EC REP</b>	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Mulher	 <b>STERILE EO</b>	Esterilizado com óxido de etileno
 <b>BARCODE</b>	Folha de dados de códigos de barras		Apenas para avaliação do desempenho IVD		Armazenar no escuro
 <b>LOT</b>	Número do lote	 <b>GTIN</b>	Global Trade Item Number		Limite de temperatura
	Risco biológico		Importador	 <b>TDF</b>	Ficheiro de definição de teste
 <b>REF</b>	Referência de catálogo	 <b>IVD</b>	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Este lado para cima
	Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 <b>LLR</b>	Limite inferior do intervalo atribuído	 <b>Procedure UltraSensitive</b>	Procedimento ultrasensível
 <b>Collect Date</b>	Data da colheita		Homem	 <b>UDI</b>	Identificação exclusiva do equipamento
	Consulte as instruções de utilização		Fabricante	 <b>ULR</b>	Limite superior do intervalo atribuído
	Conteúdo suficiente para <n> testes	 <b>CONTROL -</b>	Controlo negativo	 <b>Urine Fill Line</b>	Linha de enchimento da urina
 <b>CONTENT</b>	Conteúdo do kit		Não esterilizado	 <b>Rx Only</b>	Apenas nos EUA: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um profissional licenciado ou a pedido deste.
 <b>CONTROL</b>	Controlo		Nome do paciente		Prazo de validade
	Data do fabrico		Número do paciente		
	Dispositivo para testes efetuados próximo dos pacientes		Abra aqui		
	Dispositivo para autotestes	 <b>CONTROL +</b>	Controlo positivo		
		 <b>QS copies / PCR</b>	Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.		

## Apoio técnico

Para apoio técnico (assistência) entre em contacto com a sua filial local:  
[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Fabricante e importador

**Tabela 27** Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.  
1080 US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876 USA  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Fabricado nos EUA



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Marcas comerciais e patentes

Consulte <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

## Direitos de autor

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.

## Bibliografia

1. Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *J Infect Dis.* 2006;193(2):172-179. Epub 2005/12/20.
2. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Mol Med.* 2009;9(2):100-115. Epub 2009/03/12.
3. Bode LG, Kluytmans JA, Wertheim HF, et al. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med.* 2010;362(1):9-17. Epub 2010/01/08.
4. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis.* 2001;32 Suppl 2:S114-132. Epub 2001/04/26.
5. Reed SD, Friedman JY, Engemann JJ, et al. Costs and outcomes among hemodialysis-dependent patients with methicillin-resistant or methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005;26(2):175-183. Epub 2005/03/11.
6. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003;24(5):362-386. Epub 2003/06/06.
7. Huang SS, Yokoe DS, Hinrichsen VL, et al. Impact of routine intensive care unit surveillance cultures and resultant barrier precautions on hospital-wide methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2006;43(8):971-978. Epub 2006/09/20.
8. Peterson LR, Diekema DJ. To screen or not to screen for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2010;48(3):683-689. Epub 2010/01/15.
9. Cunningham R, Jenks P, Northwood J, Wallis M, Ferguson S, Hunt S. Effect on MRSA transmission of rapid PCR testing of patients admitted to critical care. *J Hosp Infect.* 2007;65(1):24-28. Epub 2006/12/06.
10. French GL. Methods for screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15 Suppl 7:10-16. Epub 2009/12/03.
11. Hardy K, Price C, Szczepura A, et al. Reduction in the rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in surgical wards by rapid screening for colonization: a prospective, cross-over study. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(4):333-339. Epub 2009/07/23.
12. Peterson LR, Liesenfeld O, Woods CW, et al. Multicenter evaluation of the LightCycler methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) advanced test as a rapid method for detection of MRSA in nasal surveillance swabs. *J Clin Microbiol.* 2010;48(5):1661-1666. Epub 2010/03/26.
13. Struelens MJ, Hawkey PM, French GL, Witte W, Tacconelli E. Laboratory tools and strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* screening, surveillance and typing: state of the art and unmet needs. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(2):112-119. Epub 2009/03/18.
14. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

## Informações de revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc. Rev. 4.0 07/2023	<p>Atualização da secção <b>Precauções e requisitos de manuseamento</b> para aconselhar o utilizador a entrar em contacto com a autoridade local competente.</p> <p>Secção <b>Correlação de métodos</b> renomeada para <b>Desempenho clínico com amostras clínicas</b>.</p> <p>Foram adicionados à secção <b>Desempenho clínico com amostras clínicas</b> dados de desempenho clínico adicionais.</p> <p>Weblink adicionado ao resumo do relatório de segurança e de desempenho.</p> <p>Atualizada a página de símbolos harmonizados.</p> <p>Foram atualizados os endereços do fabricante e do importador.</p> <p>Secção <b>Marcas comerciais e patentes</b> atualizada, incluindo o link.</p> <p>Secção de <b>Apoio técnico</b> adicionada.</p> <p>Revisto para conformidade com os requisitos do IVDR.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>
Doc. Rev. 5.0 02/2024	<p>Atualizadas as informações sobre perigos dos kits Lysis Kit 1.</p> <p>Marca <b>cobas®</b> atualizada.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>
Doc. Rev. 6.0 06/2024	<p>Atualizadas as informações sobre perigos dos kits de preparação de amostra.</p> <p>Rx Only removido da primeira página.</p> <p>Atualizada a página de símbolos harmonizados.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>

O resumo de relatório de segurança e de desempenho pode ser encontrado utilizando o seguinte link:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>