

BD MAX™ Check-Points CPO

REF 278102

Para utilização de diagnóstico *in vitro*
Para utilização com o Sistema BD MAX

P0226(02)
2019-08



24



Rx Only

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Die Packungsbeilage erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung. / Póngase en contacto con su representante local de BD para instrucciones. / Contacter le représentant local de BD pour les instructions. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteyts lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Rivolgarsi al rappresentante BD di zona per istruzioni. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o representante local da BD para instruções. / Pentru instrucțiuni, contactați reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Inštrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD.

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O ensaio BD MAX Check-Points CPO realizado no Sistema BD MAX é um teste de PCR em tempo real de diagnóstico *in vitro*, qualitativo, automatizado concebido para a deteção e diferenciação de genes de carbapenemase *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*/*bla_{IMP}* e *bla_{OXA-48}*, que estão associados à não suscetibilidade de carbapenem em bactérias Gram-negativas. O ensaio não distingue entre genes *bla_{VIM}* e *bla_{IMP}*.

O ensaio BD MAX Check-Points CPO tem como objetivo ajudar a controlar a infeção na deteção de bactérias não suscetíveis a carbapenem que colonizam doentes em ambiente hospitalar. O ensaio BD MAX Check-Points CPO não se destina a orientar ou monitorizar o tratamento para infeções bacterianas não suscetíveis a carbapenem. Um resultado negativo do ensaio BD MAX Check-Points CPO não exclui a presença de outros mecanismos de resistência.

O teste é realizado em esfregaços retais de doentes em risco de colonização intestinal de bactérias não suscetíveis a carbapenem. Este teste destina-se a ser utilizado em conjunto com a apresentação clínica, resultados laboratoriais e informação epidemiológica. Os resultados deste teste não devem ser usados como a única base para decisões de tratamento de doentes. As culturas concomitantes são necessárias para recuperar organismos para tipagem epidemiológica, teste de suscetibilidade antimicrobiana e para identificação bacteriana confirmatória adicional.



P0226(02)

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

A emergência e disseminação mundial de bactérias Gram-negativas não suscetíveis a carbapenem são uma ameaça grave à saúde pública. Estes organismos estão associados a taxas de mortalidade elevadas e têm o potencial de se difundirem amplamente. A causa mais frequente de resistência a carbapenem em bactérias Gram-negativas é a expressão de carbapenemases. Existem cinco genes de carbapenemase principais, sendo a maioria encontrada mais frequentemente em amostras clínicas humanas: KPC (carbapenemase *Klebsiella pneumoniae*), VIM (metalo- β - lactamases codificadas por integração Verona), NDM (metalo- β - lactamases New Delhi), OXA-48 (variantes do tipo oxacilina-48 e OXA-48) ou IMP (Imipenemase).

O ensaio BD MAX Check-Points CPO pode ser realizado em aproximadamente 2,5 horas, quando comparado com métodos de culturas que demorarão 48 horas para um resultado negativo e até 96 horas para um resultado positivo confirmado.

O ensaio BD MAX Check-Points CPO detecta a presença de genes de carbapenemase em bactérias gram-negativas e inclui um controle de processamento de amostras interno. O ensaio BD MAX Check-Points CPO automatiza o processo de teste e minimiza a intervenção do operador desde o momento em que a amostra é colocada no sistema BD MAX até à disponibilização dos resultados.

É colhido um esfregaço retal e transportado para o laboratório. A amostra é homogeneizada e é transferida uma alíquota para o tubo de tamponamento da amostra BD MAX Check-Points CPO. O tubo de tamponamento da amostra é colocado no sistema BD MAX e ocorrem os seguintes procedimentos automatizados: Lise de células bacterianas, extração e concentração de ADN, reidratação de reagente, amplificação de ácido nucleico e detecção da sequência de ácido nucleico alvo usando reação de cadeia de polimerase em tempo real (PCR). Os alvos amplificados são detectados com sondas de hidrólise marcadas com fluoróforos. O ensaio inclui também um controle de processamento de amostras, presente no tubo de extração e é submetido aos mesmos passos de extração, concentração e amplificação para monitoramento de substâncias inibitórias, falha do instrumento e falha de reagente. Não é necessária qualquer intervenção do operador depois de a amostra clínica e tira de reagente serem carregadas no sistema BD MAX. A amplificação, detecção e interpretação dos sinais são realizadas automaticamente pelo sistema BD MAX.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

As amostras de esfregaço retal são colhidas dos doentes usando ESwabs. Após amostragem, são transportadas para o laboratório através do meio de transporte Amies da ESwab. O ESwab é agitado em vórtex e é transferida uma alíquota de 50 µl para o tubo de tamponamento da amostra, usando uma pipeta com ponta de filtro descartável. O tubo de tamponamento da amostra é fechado com uma tampa de septo e agitado em vórtex. Depois de gerada a lista de trabalho e de a amostra clínica ser carregada no sistema BD MAX, juntamente com uma tira reagente BD MAX Check-Points CPO e um cartucho de PCR BD MAX, a série é iniciada e não é necessária intervenção adicional do operador. O sistema BD MAX automatiza a preparação da amostra, incluindo a lise do microrganismo alvo, extração e concentração de ADN, reidratação de reagente, amplificação de sequência de ácido nucleico alvo e detecção usando PCR em tempo real. A interpretação do sinal é realizada automaticamente pelo sistema BD MAX. O ensaio inclui também um controle de processamento de amostras, fornecido no tubo de extração e sujeito a passos de extração, concentração e amplificação. O controle de processamento de amostras monitora a presença de possíveis substâncias inibitórias, bem como falhas de sistema ou reagentes.

Após a lise celular enzimática a temperaturas elevadas, os ácidos nucleicos libertados são captados em esferas magnéticas por afinidade. As esferas, com ácidos nucleicos ligados, são lavadas e os ácidos nucleicos eluídos. O ADN eluído é neutralizado

e transferido para o tubo de master mix para reidratar os reagentes da PCR. Após reidratação, o sistema BD MAX dispensa um volume fixado de solução pronta para PCR no cartucho de PCR BD MAX. As microválvulas no cartucho de PCR BD MAX são seladas pelo sistema antes de iniciar a PCR, de forma a conter a mistura de amplificação, prevenindo assim a evaporação e contaminação. Os alvos de ADN amplificados são detectados usando sondas de hidrólise (TaqMan®), rotuladas numa extremidade com um corante repórter fluorescente (fluoróforo) e, na outra extremidade, uma fração temperada. As sondas marcadas com fluoróforos diferentes são usadas para detetar amplificações para os genes de carbapenemase KPC, VIM, OXA-48, NDM, IMP e controle de processamento de amostras em cinco canais ópticos diferentes do sistema BD MAX.

Os genes VIM e IMP são combinados num canal óptico do sistema BD MAX, todos os outros genes têm um canal óptico separado. Quando as sondas estão no seu estado nativo, a fluorescência do fluoróforo é temperada devido à sua proximidade ao supressor. Porém, na presença de ADN alvo, as sondas hibridizam para as sequências complementares e são hidrolisadas pela atividade 5'-3' exonuclease da polimerase do ADN, à medida que sintetiza o filamento nascente ao longo do modelo de ADN.

Como resultado, os fluoróforos são separados das moléculas do supressor e a fluorescência é emitida. O sistema BD MAX monitoriza estes sinais em cada ciclo e interpreta os dados no final do programa para reportar os resultados finais.

Conteúdo	Quantidade
BD MAX Check-Points CPO Master Mix (F6) <i>PCR Master Mix seco contendo o controle de processamento de amostras e primers de genes específicos da carbapenemase e sondas TaqMan.</i>	24 testes (2 x 12 tubos)
Tiras de reagente BD MAX Check-Points CPO <i>Tira de reagente unificada contendo todos os reagentes líquidos e pontas de pipetas descartáveis necessárias para extração de ADN.</i>	24 testes
Tubos de extração BD MAX Check-Points CPO (A8) <i>Pellet seca contendo esferas magnéticas por afinidade de ADN, reagentes de protease e controle de processamento de amostras.</i>	24 testes (2 x 12 tubos)
Tubos de tamponamento de amostra BD MAX Check-Points CPO	24 testes
Tampas de septo	25

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS EXIGIDOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Sistema BD MAX (BD, Cat. n.º 441916)
- Cartuchos de PCR BD MAX (BD, Cat. n.º 437519)
- Misturador vórtex
- Pipetas e pontas (de filtro) descartáveis para um volume de 50 µl
- Bata e luvas descartáveis sem pó
- Dispositivos de amostragem: Copan ESwab, (Copan, Cat. n.º 480CE) ou BD ESwab (BD, Cat n.º 220245)

Meios sugeridos para cultivo de isolados de controle (ver secção Controle de qualidade): **Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (por ex., BD™ Columbia Agar with 5% Sheep Blood, BD, Cat. n.º 254005).

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- O ensaio BD MAX Check-Points CPO é para utilização de diagnóstico *in vitro*.

- Este produto só pode ser usado no sistema BD MAX.
- Não usar o kit se o rótulo que sela a embalagem exterior estiver quebrado.
- Não usar reagentes se as bolsas de proteção estiverem abertas ou partidas após a chegada.
- Fechar imediatamente as bolsas de proteção de reagentes com o fecho após cada utilização. Remover qualquer ar em excesso nas bolsas antes da selagem.
- Verificar as tiras de reagente em relação ao enchimento adequado de líquido (garantir que os líquidos estão no fundo dos tubos) (ver Imagem 1).
- Verificar as tiras de reagente para garantir a presença de todas as pontas de pipetas (ver Imagem 1).
- Não retirar o dessecantedessecante das bolsas de reagentes.
- Não usar os reagentes em caso de ausência de dessecante ou caso este se encontre partido dentro das bolsas de reagentes.
- Não usar reagentes se o alumínio tiver sido partido ou danificado.
- Não misturar reagentes de bolsas e/ou kits e/ou lotes diferentes.
- Não trocar ou reutilizar tampas, pois pode ocorrer contaminação e comprometer os resultados do teste.
- Proceder com cuidado na utilização de soluções químicas pois a legibilidade do código de barras do Master Mix e do tubo de extração pode ser alterada.
- Não usar reagentes e/ou materiais sem validade.
- É essencial uma boa técnica laboratorial para o desempenho adequado deste ensaio. Devido à elevada sensibilidade analítica deste teste, deverá ter-se cuidado extremo para preservar a pureza de todos os materiais e reagentes.
- Para evitar a contaminação por amplicões, não separe os cartuchos de PCR BD MAX após a utilização. Os selos dos cartuchos de PCR BD MAX são concebidos para prevenir a contaminação.
- A realização do ensaio BD MAX Check-Points CPO fora dos intervalos de tempo recomendados pode produzir resultados inválidos. Os ensaios não realizados nos intervalos de tempo especificados deverão ser repetidos com uma amostra nova.
- Os controles adicionais podem ser testados de acordo com as orientações ou requisitos dos regulamentos locais, estatais, distritais e/ou federais ou organizações de acreditação.
- Nos casos em que a cultura ou outros testes de PCR são realizados no laboratório, deverá ter-se cuidado para garantir que o ensaio BD MAX Check-Points CPO, quaisquer reagentes adicionais para testes e o sistema BD MAX não são contaminados. Evitar sempre a contaminação microbiana e de desoxirribonuclease (DNase) dos reagentes.
Devem ser usadas luvas antes da manipulação de reagentes e cartuchos.
- Manusear sempre as amostras como se fossem infecciosas e de acordo com os procedimentos laboratoriais de segurança, conforme os descritos no Documento CLSI M29¹ e de Biossegurança em laboratórios microbiológicos e biomédicos.²
- Usar roupa de proteção pessoal e luvas descartáveis no manuseamento de todos os reagentes.
- Lavar bem as mãos após a realização do teste.
- Não fumar, beber, mastigar ou comer em zonas onde as amostras ou reagentes do kit estão a ser manuseados.
- Eliminar os reagentes não utilizados e resíduos de acordo com os regulamentos locais, estatais, distritais e/ou federais.
- Consultar o Manual de Utilizador do Sistema BD MAX³ para advertências adicionais, precauções e procedimentos.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Estabilidade das amostras

As amostras recolhidas deverão ser mantidas entre os 2 °C e os 25 °C durante o transporte. Proteger contra a exposição a calor excessivo.

As amostras podem ser armazenadas durante até 48 horas (2 dias) a 2-25 °C antes do teste.

Os reagentes e componentes do ensaio BD MAX Check-Points CPO estão estáveis a 2-25 °C até à data de validade indicada. Não usar componentes fora do prazo de validade.

Armazenamento de componentes do kit

Os tubos de Master Mix BD MAX Check-Points CPO e os tubos de extração BD MAX Check-Points CPO são fornecidos em bolsas seladas. Selar imediatamente após abertura de forma a proteger o produto contra a humidade. Os tubos de Master Mix e os tubos de extração são estáveis durante até 14 dias a 2-25 °C após a abertura inicial e novo fecho da bolsa.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO Coleta/transporte de amostras

As instruções de utilização do fabricante do dispositivo de amostragem deverão ser atentamente seguidas de forma a obter uma amostra adequada. Rotular o tubo de coleta de amostra (contendo o esfregaço retal no meio Amies líquido) e transportar para o laboratório de acordo com os procedimentos operativos normalizados institucionais (consultar a secção de Conservação e estabilidade).

Preparação das amostras

Nota: São necessários um (1) tubo de tamponamento da amostra e uma (1) tampa de septo para cada amostra e cada controle externo a serem testados.

1. Rotular o tubo de tamponamento da amostra BD MAX (tampa transparente) com código de barra com a identificação apropriada para a amostra. Não tapar, escrever ou colocar o rótulo por cima do código de barras 2D.
2. Agitar em vórtex a amostra de esfregaço retal no meio de transporte líquido Amies a uma velocidade baixa durante 5 segundos.
3. Retirar a tampa transparente do tubo de tamponamento da amostra e pipetar 50 µl de meio de transporte líquido Amies para o tubo de tamponamento da amostra.
4. Tapar novamente o tubo de tamponamento da amostra inoculado usando uma tampa de septo e agitar em vórtex a uma velocidade baixa durante 10 segundos.
5. Colocar o tubo de tamponamento da amostra no suporte adequado.
6. Preparar quaisquer amostras adicionais repetindo os passos 1 até 5 para as amostras restantes, garantindo que as luvas estão limpas antes de manusear amostras adicionais.
7. Continuar para a secção de Operação do Sistema BD MAX para realizar o ensaio BD MAX Check-Points CPO no sistema BD MAX.

Operação do sistema BD MAX

Nota: Consultar o Manual do Utilizador do Sistema BD MAX³ para instruções detalhadas (secção de Operação).

NOTA: São necessários um (1) Master Mix, um (1) tubo de extração e uma (1) tira de reagente unificada para cada amostra e cada controle externo a serem testados. Colocar de lado o número exigido de materiais das bolsas ou caixas de proteção. Para armazenar as bolsas de Master Mix ou do tubo de extração abertas, retirar o excesso de ar e fechar com o fecho hermético.

1. Ligar o sistema BD MAX (caso ainda não esteja ligado) e iniciar sessão introduzindo o <username> (nome do utilizador) e <password> (palavra-passe).
2. Devem ser usadas luvas antes da manipulação de reagentes e cartuchos.
3. Retirar o número necessário de tiras de reagente unificadas do kit BD MAX Check-Points CPO. Tocar cuidadosamente em cada tira numa superfície dura para garantir que todos os líquidos estão no fundo dos tubos.
4. Retirar o número exigido de tubo(s) de extração e tubo(s) de Master Mix das bolsas de proteção. Retirar o ar em excesso e fechar as bolsas com o fecho hermético.
5. Para cada amostra a ser testada, colocar uma (1) tira de reagente unificada no suporte do sistema BD MAX, começando na Posição 1 do suporte A.
6. Introduzir um (1) tubo de extração (alumínio branco) em cada tira de reagente unificada na posição 1, conforme apresentado na Figura 1.
7. Introduzir um (1) tubo de Master Mix (alumínio verde) em cada tira de reagente unificada na posição 2, conforme apresentado na Figura 1.

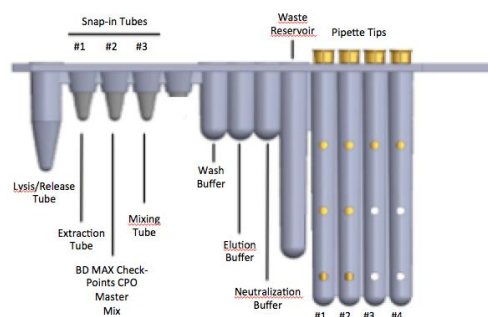
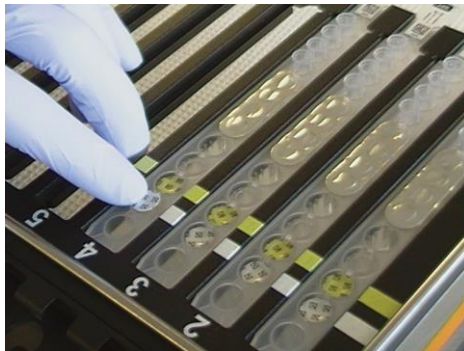


Figura 1: Introduzir os tubos de extração BD MAX Check-Points CPO e os tubos de Master Mix BD MAX Check-Points CPO nas tiras de reagente unificadas

8. Clicar no ícone "Run" (Executar) e introduzir o número do lote do kit para o ensaio BD MAX Check-Points CPO (para rastreabilidade do lote), digitalizando o código de barras por meio do leitor ou introduzindo-o manualmente. **NOTA: Repetir o passo 8 sempre que é usado um novo lote de kit.**
9. Navegar para a lista de trabalho. Através do menu suspenso, seleccionar <BD MAX CPO 62>.

10. Introduzir a ID do tubo de tamponamento da amostra, ID do doente e número de acesso (se aplicável) na lista de trabalho, digitalizando o código de barras por meio do leitor ou introduzindo-o manualmente.
11. Selecionar o número do lote do kit adequado (na caixa exterior) no menu suspenso.
12. Repetir os passos 9 a 11 para todos os tubos de tamponamento de amostras restantes.
13. Colocar os tubos de tamponamento de amostras no(s) suporte(s) do sistema BD MAX correspondendo as tiras de reagente unificadas montadas nos passos 5 a 7.
14. Colocar o número exigido de cartucho(s) de PCR BD MAX no sistema BD MAX™ (ver Figura 2).
 - Cada cartucho acomoda até 24 amostras.
 - O sistema BD MAX irá selecionar automaticamente a posição e linha no cartucho de PCR BD MAX para cada série.
 - Os cartuchos de PCR são usados por série E por suporte.
 - Os cartuchos de PCR BD MAX podem ser usados várias vezes até utilização de todas as vias, selecionar Run Wizard (Assistente de corrida) no separador Worklist (Lista de trabalho) para atribuições de linhas.
 - Consultar o Manual do Utilizador³ do sistema BD MAX para mais detalhes (1 cartucho por suporte).



Figura 2: Carregar cartuchos de PCR BD MAX

15. Carregar o(s) suporte(s) no sistema BD MAX (Figura 3).
16. Fechar a tampa do sistema BD MAX e carregar em <Start> (Iniciar) para iniciar o processamento.

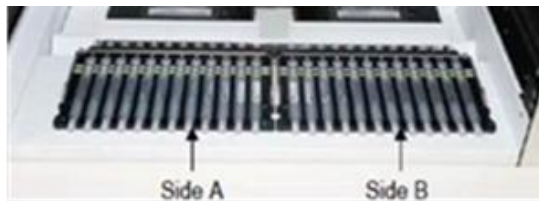


Figura 3: Carregar o(s) suporte(s) no sistema BD MAX

17. No final do processo, verificar imediatamente os resultados ou armazenar os tubos de tamponamento de amostras a 2-25 °C durante um máximo de 48 horas até verificação dos resultados.

NOTA: Caso a tampa do septo seja danificada durante o processo, substituir por uma nova antes de armazenar a amostra.

NOTA: Quando é obtido um resultado Indeterminado (IND), Não resolvido (UNR) ou Incompleto (INC), ou quando ocorre a falha de um controle externo, deverá ser realizado um teste de repetição com o tubo de tamponamento da amostra preparado (ver "Repetição do procedimento de teste"). Em caso de falha de um controle externo, repetir o teste de todas as amostras usando controles externos recentemente preparados (ver "Controle de qualidade").

CONTROLE DE QUALIDADE

Os procedimentos do controle de qualidade monitorizam o desempenho do ensaio. Os laboratórios devem estabelecer o número, tipo e frequência dos materiais de controle de teste, de acordo com as orientações ou requisitos de regulamentos locais, distritais, estatais e/ou federais ou organizações de acreditação, de forma a monitorizar todo o processo analítico. Para orientação geral de CQ, o utilizador poderá consultar o CLSI MM03 e EP12.^{4,5}

1. Os controles externos positivos e negativos não são usados pelo software do sistema BD MAX para fins de interpretação do resultado do teste da amostra. Os controles externos são tratados como se fossem amostras do doente. (Consultar a Tabela 2 para interpretação dos resultados do ensaio de controle externo.)

2. Deverá ser executado um (1) controle positivo externo e um (1) controle negativo externo diariamente, no mínimo, até ser alcançada a validação de processo adequada no sistema BD MAX em cada unidade laboratorial. A frequência reduzida de teste de controle deverá estar de acordo com os regulamentos aplicáveis.
3. O controle positivo externo destina-se a monitorizar a falha substancial do reagente. O controle negativo externo é utilizado para detetar a contaminação de reagentes ou ambiental (ou transferência) por ácidos nucleicos alvo.
4. São recomendados vários tipos de controles externos para permitir que o utilizador selecione o mais adequado para o programa de controle de qualidade laboratorial respetivo.
 - a. Controle negativo externo: Amostras anteriormente caracterizadas conhecidas como sendo negativas ou material de controle comercialmente disponível como cepa de controle gram-negativa *E. coli* ATCC 25922 não portadora de qualquer um dos genes de carbapenemase alvo do BD MAX Check-Points CPO. A Check-Points recomenda a preparação do controle negativo externo antes do controle positivo externo.
 - b. Controle positivo externo: são recomendados materiais de controle comercialmente disponíveis que transportam um ou mais dos genes de carbapenemase alvo BD MAX Check-Points CPO, como cepas de controle gram-negativas NCTC indicadas abaixo (consultar a Tabela 1).

Na preparação da suspensão de controle externo, recomenda-se que os isolados sejam novamente suspensos numa solução salina para uma turvação de 0,5 McFarland e que sejam realizadas diluições de série com solução salina para obtenção da diluição final apresentada na Tabela 1. A diluição final deverá ser realizada na matriz de esfregaço retal negativa para reproduzir melhor a amostra clínica real. Inocular 50 µl de amostra de controle externo para o tubo de tamponamento da amostra correspondente. Processar e testar como amostra (consultar as secções de Preparação da amostra e de Operação do sistema BD MAX).
5. Todos os controles externos deverão reproduzir os resultados esperados (positivo para controle positivo externo, negativo para controle negativo externo) e nenhum controle externo falhado (resultados não resolvidos ou indeterminados).
6. Um controle negativo externo que reproduza um resultado positivo do teste indica um problema de manuseamento e/ou contaminação da amostra. Consultar a técnica de manuseamento da amostra para evitar a mistura e/ou contaminação. Um controle positivo externo que reproduza um resultado negativo do teste indica um problema de manuseamento/preparação da amostra. Rever a técnica de manuseamento/preparação da amostra.
7. Um controle externo que reproduza um resultado de teste não resolvido, indeterminado ou incompleto é indicativo de um reagente ou de uma falha do sistema BD MAX. Verificar o monitor do sistema BD MAX quanto a mensagens de erro. Consultar a secção de resumo de erro do sistema no Manual do Utilizador do sistema BD MAX para interpretação de códigos de aviso e erro. Se o problema persistir, usar reagentes de uma bolsa não aberta ou usar um novo kit BD MAX Check-Points CPO.

Tabela 1: Cepas comercialmente disponíveis para controle externo positivo e negativo

Gene alvo	Cepa de controle externo	Diluição final de 0,5 McFarland
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (NCTC-13438)	1/1000
VIM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (NCTC-13437)	1/5000
IMP	<i>Escherichia coli</i> (NCTC 13476)	1/7000
OXA-48	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (NCTC-13442)	1/10 000
NDM	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (NCTC-13443)	1/400
Controle negativo	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	1/10

8. Cada tubo de extração BD MAX Check-Points CPO contém um controle de processamento de amostra que é um plasmídeo contendo uma sequência de ADN alvo sintética. O controle de processamento da amostra monitoriza a eficácia da captação de ADN, lavagem e eluição durante os passos de processamento da amostra, bem como a eficácia da amplificação e deteção do ADN durante a análise de PCR. Se o resultado do controle de processamento da amostra não cumprir os critérios de aceitação, o resultado da amostra será reportado como não resolvido; porém, quaisquer resultados da análise positivos (POS) serão notificados e não serão designados alvos como NEG. Um resultado não resolvido é indicativo de inibição associada à amostra ou falha do reagente.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados estão disponíveis no separador <Results> (Resultados) na janela de <Results> (Resultados) no monitor do sistema BD MAX. O software do sistema BD MAX interpreta automaticamente os resultados dos testes. Os resultados são reportados para cada um dos analitos e para controle de processamento da amostra. Um resultado do teste poderá ser designado como NEG (Negativo), POS (Positivo) ou UNR (Não resolvido), com base no estado de amplificação do alvo

e controle de processamento da amostra. Os resultados IND (Indeterminado) ou INC (Incompleto) devem-se a falha no sistema BD MAX.

Tabela 2: Interpretação de resultado do ensaio BD MAX Check-Points CPO

Resultado do ensaio reportado	Interpretação do resultado
KPC POS	Detectado gene KPC
KPC NEG	Não detectado gene KPC
VIM e ou IMP POS	Detectado gene VIM e/ou IMP
VIM e ou IMP NEG	Não detectado gene VIM ou IMP
OXA POS	Detectado gene OXA-48
OXA NEG	Não detectado gene OXA-48
NDM POS	Detectado gene NDM
NDM NEG	Não detectado gene NDM
UNR	Não resolvido - amostra inibitória ou falha do reagente; sem amplificação de controle de processamento da amostra
IND	Indeterminado devido a falha do sistema BD MAX (com códigos de aviso ou erro*)
INC	Série incompleta (com códigos de aviso ou erro*)

* Consultar a secção "Resolução de problemas" do Manual do Utilizador do Sistema BD MAX³ para a interpretação dos códigos de aviso e erro.

REPETIÇÃO DO PROCEDIMENTO DE TESTE

NOTA: Existe volume suficiente para um teste de repetição do tubo de tamponamento da amostra. Para tubos de tamponamento da amostra armazenados a 2-25 °C, a repetição do teste deverá ser realizada no período de 48 horas após inoculação inicial do tubo de tamponamento da amostra com a amostra.

NOTA: Podem ser testadas novas amostras na mesma série com amostras repetidas.

Resultado não resolvido

Os resultados não resolvidos podem ser obtidos em caso de inibição associada à amostra ou caso a falha do reagente impeça a amplificação adequada do alvo ou do controle de processamento da amostra. Se o controle de processamento da amostra não amplificar, a amostra será reportada como UNR; porém, quaisquer resultados positivos (POS) do ensaio serão reportados. As amostras podem ser repetidas a partir dos Tubos de tamponamento da amostra dentro do intervalo de tempo definido acima. Agitar em vórtex e reiniciar a partir da secção de Operação do sistema BD MAX. Alternativamente, podem ser repetidas amostras usando a amostra do esfregaço retal restante com um novo tubo de tamponamento da amostra, dentro dos intervalos de tempo definidos acima. Reiniciar a partir da secção de Preparação da amostra.

Resultado indeterminado

Os resultados indeterminados podem ser obtidos na eventualidade de ocorrência de uma falha de sistema. As amostras podem ser repetidas a partir dos Tubos de tamponamento da amostra dentro do intervalo de tempo definido acima. Agitar em vórtex e reiniciar a partir da secção de Operação do sistema BD MAX. Alternativamente, podem ser repetidas amostras usando a amostra do esfregaço retal restante com um novo tubo de tamponamento da amostra, dentro dos intervalos de tempo definidos acima. Reiniciar a partir da secção de Preparação da amostra. Para interpretação de códigos de aviso e erro, consultar o Manual do Utilizador do sistema BD MAX³ (secção de Resolução de problemas).

Resultado incompleto

Os resultados incompletos podem ser obtidos em caso de falha na conclusão de preparação de amostras ou PCR. As amostras podem ser repetidas a partir dos Tubos de tamponamento da amostra dentro do intervalo de tempo definido acima. Agitar em vórtex e reiniciar a partir da secção de Operação do sistema BD MAX. Alternativamente, podem ser repetidas amostras usando a amostra do esfregaço retal restante com um novo tubo de tamponamento da amostra, dentro dos intervalos de tempo definidos acima. Reiniciar a partir da secção de Preparação da amostra. Para interpretação de códigos de aviso e erro, consultar o Manual do Utilizador do sistema BD MAX³ (secção de Resolução de problemas).

Falha de controle externo

Os controles externos devem reproduzir os resultados esperados, quando testados. Se as amostras tiverem de ser repetidas devido a um resultado de controle externo incorreto, deverão ser repetidas juntamente com controles externos recém-preparados dentro dos intervalos de tempo permitidos definidos acima.

CULTURA DE AMOSTRAS

A cultura e identificação de microrganismos de amostras positivas devem ser realizadas de acordo com os procedimentos laboratoriais.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Este produto só pode ser usado no sistema BD MAX.
- Poderão ocorrer resultados errados através de coleta, manuseamento e armazenamento de amostras indevidos, erro técnico, mistura da amostra ou porque o número de microrganismos na amostra é inferior à sensibilidade analítica do teste.
- Se o resultado do BD MAX Check-Points CPO for IND, INC ou UNR (para um ou mais alvos), o teste deve ser repetido.
- Um resultado positivo no BD MAX Check-Points CPO não indica necessariamente a presença de microrganismos viáveis.
- A análise *in silico* combinada com análise de inclusividade indica que são detetadas as seguintes variantes de carbapenemase:
 - o KPC: 2-37
 - o VIM: 1-6, 8-52, 54, 56-60
 - o Tipo OXA-48: 48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 438-439, 484, 505, 517, 519, 566
 - o NDM: 1-24
 - o IMP: 1-4, 6-8, 10, 19-20, 23-26, 30, 34, 38, 40, 42-43, 51-52, 55, 59-61, 66, 70, 73, 76-80
- O ensaio BD MAX Check-Points CPO não é uma ferramenta de subtipagem e não apresenta variantes dos genes *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}* ou *bla_{OXA-48}*.
- As análises *in silico* utilizadas para prever as variantes detetadas pelo ensaio basearam-se numa comparação das sequências dos genes-alvo disponíveis na base de dados BLDB⁶ com as sequências de amplicon e com o primer/sonda do ensaio BD MAX Check-Points CPO para cada gene-alvo. As análises *in silico* que utilizam CLUSTALW foram realizadas em 2017-2018. Não foram realizadas análises *in silico* das novas sequências de genes variantes depositadas na base de dados após 2018 para os cinco genes-alvo.
- Mutações ou polimorfismos no primer ou regiões de ligação da sonda podem afetar a detecção de variantes do gene *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}* ou *bla_{OXA-48}* atuais, novas ou desconhecidas, produzindo um resultado falso negativo.
- VIM e IMP são detetadas no mesmo canal, mas não são diferenciadas.
- Como em todos os testes de diagnóstico *in vitro* com base em PCR, podem ser detectados níveis extremamente baixos do alvo, abaixo da sensibilidade analítica do ensaio, mas os resultados podem não ser reproduzíveis.
- Os resultados falsos negativos podem ocorrer devido a perda de ácido nucleico por coleta, transporte ou armazenamento de amostras inadequado ou devido a lise de células bacterianas inadequadas. O controle de processamento da amostra foi adicionado ao teste para auxiliar na identificação de amostras de contenham inibidores para amplificação de PCR. O controle de processamento da amostra não indica se o ácido nucleico foi perdido devido a coleta, transporte ou armazenamento de amostras inadequado ou por as células bacterianas terem sido inadequadamente lisadas.
- As amostras excessivas ou fortemente manchadas podem levar a resultados não resolvidos (UNR) devido a inibição.
- Como em todos os testes de diagnóstico *in vitro*, os valores preditivos positivos e negativos são altamente dependentes na prevalência. O desempenho do BD MAX Check-Points CPO pode variar dependendo da prevalência e população testada.
- O tubo de tamponamento da amostra não foi desenhado para suportar a viabilidade do microrganismo. Caso seja necessária a cultura, esta deverá ser realizada da amostra original.
- Este teste é um teste qualitativo e não fornece valores quantitativos nem indica a quantidade de microrganismos presente.
- O desempenho do ensaio BD MAX Check-Points CPO não foi avaliado com amostras do esfregaço retal de doentes pediátricos.
- A detecção de *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}* e/ou *bla_{OXA-48}* a partir de amostras de esfregaço retal pode ser proveniente de outros microrganismos diferentes de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*.
- O desempenho do ensaio BD MAX Check-Points CPO com isolados sensíveis que contêm as sequências de genes *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}* e/ou *bla_{OXA-48}* não foi avaliado exaustivamente.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

As características de desempenho clínico do ensaio BD MAX Check-Points CPO foram determinadas num estudo de investigação multicêntrico e num estudo envolvendo amostras artificiais. O estudo de investigação envolveu um total de cinco (5) centros clínicos em localizações geográficas diversas, nos quais as amostras de esfregaço retal foram colhidas como parte dos cuidados de saúde de rotina, incluídas num ensaio e testadas com o ensaio BD MAX Check-Points CPO. As amostras foram obtidas a partir de doentes em risco de colonização intestinal de bactérias não suscetíveis a carbapenem. O método de referência foi uma cultura bacteriana para recuperação de isolados não

suscetíveis de amostras de esfregaço retal seguido da detecção de genes de resistência a antibióticos através de PCR e sequenciação. A cultura bacteriana englobou quer a aplicação direta em placa no chromID Carba e chromID OXA48, quer o enriquecimento de um dia para o outro em caldo MacConkey, seguindo-se a aplicação em placa de gelose MacConkey com um disco de meropenem de 10 ug. Para amostras artificiais, foram testadas cepas bem caracterizadas misturadas numa matriz de esfregaço retal negativo única perto do LoD e analisadas pelo BD MAX Check-Points CPO. Além disso, as cepas foram analisadas através de PCR e sequenciação.

Foram incluídas, no total, 1486 amostras prospetivas e 166 amostras artificiais na avaliação clínica. 13 amostras prospetivas não foram reportáveis, resultando em 1473 amostras prospetivas para a avaliação do desempenho. As Tabelas 3 a 6 descrevem as características de desempenho do ensaio BD MAX Check-Points CPO observadas durante o ensaio clínico.

Taxa de amostras não reportáveis

De todas as amostras avaliadas, 1,9% (28/1486) e 0% (0/166) foram inicialmente reportadas como não resolvidas, incompletas ou indeterminadas para amostras prospetivas e artificiais, respetivamente. Após um teste de repetição válido de 17 de 28 amostras (11 não foram repetidas), 0,1% (2/1475) e 0% mantiveram-se não resolvidas para as amostras prospetivas e artificiais, respetivamente.

Resultados de desempenho com microrganismos produtores de KPC

O desempenho clínico para KPC no estudo prospetivo e estudo artificial é resumido na Tabela 3 abaixo.

Tabela 3. KPC – Desempenho geral

KPC		Prospetivo						Artificial	
		MacConkey PCR/Sequenciação		chromID PCR/Sequenciação		MacConkey + chromID PCR/Sequenciação		PCR/Sequenciação	
		POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG
BD MAX Check-Points CPO	POS	23	10	28	5	30	3	30	0
	NEG	3	1437	1	1439	4	1436	0	136
Sensibilidade/PPA (IC de 95%)		88,5% (71,0-96,0%)		96,6% (82,8-99,4%)		88,2% (73,4-95,3%)		100% (88,6-100%)	
Especificidade/NPA (IC de 95%)		99,3% (98,7-99,6)		99,7% (99,2-99,9)		99,8% (99,4-99,9)		100% (97,3-100)	

Resultados de desempenho com microrganismos produtores de VIM e IMP

O desempenho clínico para VIM/IMP no estudo prospetivo e estudo artificial é resumido na Tabela 4 abaixo.

Tabela 4. VIM/IMP – Desempenho geral

VIM/IMP		Prospetivo						Artificial	
		MacConkey PCR/Sequenciação		chromID PCR/Sequenciação		MacConkey + chromID PCR/Sequenciação		PCR/Sequenciação	
		POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG
BD MAX Check-Points CPO	POS	5	12	4	13	6	11	50	0
	NEG	0	1456	2	1454	2	1454	2	114
Sensibilidade/PPA (IC de 95%)		100% (56,6-100%)		66,7% (30,0-90,3%)		75,0% (40,9-92,9%)		96,2% (87,0-98,9%)	
Especificidade/NPA (IC de 95%)		99,2% (98,6-99,5)		99,1% (98,5-99,5)		99,2% (98,7-99,6)		100% (96,7-100)	

Resultados de desempenho com microrganismos produtores de OXA48

O desempenho clínico para OXA-48 no estudo prospectivo e estudo artificial é resumido na Tabela 5 abaixo.

Tabela 5. OXA48 – Desempenho geral

OXA-48		Prospetivo						Artificial	
		MacConkey PCR/Sequenciação		chromID PCR/Sequenciação		MacConkey + chromID PCR/Sequenciação		PCR/Sequenciação	
		POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG
BD MAX Check-Points CPO	POS	20	20	25	15	25	15	30	0
	NEG	1	1432	0	1433	1	1432	0	136
Sensibilidade/PPA (IC de 95%)		95,2% (77,3-99,2%)		100% (86,7-100%)		96,2% (81,1-99,3%)		100% (88,6-100%)	
Especificidade/NPA (IC de 95%)		98,6% (97,9-99,1)		99,0% (98,3-99,4)		99,0% (98,3-99,4)		100% (97,3-100)	

Resultados de desempenho com microrganismos produtores de NDM

O desempenho clínico para NDM no estudo prospectivo e estudo artificial é resumido na Tabela 6 abaixo.

Tabela 6. NDM – Desempenho geral

NDM		Prospetivo						Artificial	
		MacConkey PCR/Sequenciação		chromID PCR/Sequenciação		MacConkey + chromID PCR/Sequenciação		PCR/Sequenciação	
		POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG
BD MAX Check-Points CPO	POS	1	1	1	1	1	1	30	0
	NEG	0	1471	0	1471	0	1471	0	136
Sensibilidade/PPA (IC de 95%)		100% (20,7-100%)		100% (20,7-100%)		100% (20,7-100%)		100% (88,6-100%)	
Especificidade/NPA (IC de 95%)		99,9% (99,6-100)		99,9% (99,6-100)		99,9% (99,6-100)		100% (97,3-100)	

Inclusividade analítica

Foi incluída neste estudo uma variedade de microrganismos alvo do BD MAX Check-Points CPO e variantes de genes de carbapenemase. Os critérios de seleção da cepacepa incluíram prevalência e importância clínica. Foram testadas noventa e três (93) cepacepas, incluindo cepacepas de coletas públicas e isolados clínicos bem caracterizados.

O teste de inclusividade incluiu 16 espécies diferentes e 17 cepacepas KPC, representando 2 variantes, 17 cepacepas VIM representando 7 variantes, 18 cepacepas IMP representando 7 variantes, 20 cepacepas de tipo OXA48 representando 7 variantes, 17 cepacepas NDM representando 4 variantes e 4 cepacepas contendo dois genes alvo de carbapenemase.

As cepacepas foram detetadas em triplicado em 3x LoD (Limit of Detection [limite de detecção]). O BD MAX Check-Points CPO identificou corretamente 90 das 93 cepacepas testadas após testes iniciais. Foram detetadas três cepacepas,

uma *Enterobacter cloacae* com IMP-34, uma *Pseudomonas aeruginosa* com IMP-4 e uma *Klebsiella pneumoniae* com NDM-1, com a repetição do teste a 10x LoD.

Tabela 7: Resultados de inclusividade do BD MAX Check-Points CPO em comparação com prognóstico *in silico*

Alvo	Resultados de inclusividade			Prognóstico <i>in silico</i>
	N.º de cepacepas	Variantes detetadas	Variantes não detetadas	
KPC	17	KPC-2, 3	-	KPC-2-37
VIM	19	VIM-1, 2, 4, 19, 26, 27, 31	-	VIM-1-6, 8-52, 54, 56-60
PME	20	IMP-1, 3, 4, 7, 8, 26, 34	-	IMP-1-4, 6-8, 10, 19, 20, 23-26, 30, 34, 38, 40, 42-43, 51, 52, 55, 59-61, 66, 70, 73, 76-80
OXA-48	22	OXA-48, 162, 163, 181, 204, 232, 244	-	OXA-48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 438, 439, 484, 505, 517, 519, 566
NDM	19	NDM-1, 5, 6, 7	-	NDM-1-24

Em suma, todas as variantes testadas e previstas detetadas por análise *in silico* foram detetadas pelo BD MAX Check-Points CPO. Além disso, o IMP-7 e OXA-163 não previstos detectados por análise *in silico* foram detectados pelo BD MAX Check-Points CPO. IMP-43, -51 e -73 têm as mesmas sequências alvo de primer e sondas que o IMP-7, e OXA-438-439 têm as mesmas sequências alvo de primer e sondas que OXA-163 e, por isso, também se prevê a detecção por parte do ensaio BD MAX Check-Points CPO.

Sensibilidade analítica (limite de detecção)

A sensibilidade analítica (limite de detecção ou LoD) para o BD MAX Check-Points CPO foi determinada usando duas cepacepas para cada gene de carbapenemase, isto é, 10 cepacepas. As suspensões de células bacterianas para cada cepa foram preparadas e quantificadas a partir da cultura antes da inclusão neste estudo. Foi preparado um total de seis diluições em série duplas na matriz retal negativa para todas as cepacepas, em concentrações de teste que se preveem compreender o LoD para cada gene alvo de carbapenemase. As réplicas de 10 de cada concentração de teste foram avaliadas usando 3 instrumentos BD MAX e 3 lotes de reagentes e consumíveis para estimar o LoD. Para este estudo, o LoD estimado foi definido como a concentração mais baixa de células alvo, na qual 10/10 réplicas tiveram um resultado de teste positivo. O LoD foi então confirmado pelo teste de 20 réplicas para cada cepa no LoD estimado. A sensibilidade analítica (LoD), definida como a concentração mais baixa na qual se prevê que ≥95% de todas as réplicas revele um teste positivo, variou de 144 a 4774 UFC/ml de tamponamento da amostra depois de distribuir as amostras de esfregaço retal no tubo de tamponamento da amostra.

Tabela 8: Limite de detecção do BD MAX Check-Points CPO para alvos individuais

Alvo	Cepa	Espécie	UFC/ml	%
KPC	CP254	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2005	95%
	CP365	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3560	100%
VIM	CP260	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	159	100%
	CP433	<i>Enterobacter cloacae</i>	520	95%
PME	CP253	<i>Escherichia coli</i>	319	100%
	CP149	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	144	95%
OXA	CP258	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	229	95%
	CP411	<i>Escherichia coli</i>	902	95%
NDM	CP259	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4774	100%
	CP184	<i>Escherichia coli</i>	4492	95%

Especificidade analítica (reatividade cruzada e exclusividade)

O ensaio BD MAX Check-Points CPO foi realizado em amostras contendo espécies filogeneticamente relacionadas e outros microrganismos que podem ser encontrados em amostras de esfregaço retal. Além disso, as espécies foram testadas contendo genes alvo de carbapenemase pelo BD MAX Check-Points CPO, mas sem qualquer outro gene de carbapenemase ou um carbapenemase diferente ou outro gene de resistência a antibióticos. As células bacterianas foram colocadas na matriz do esfregaço retal negativo a uma concentração de $\sim 5 \times 10^6$ células/ml. De um modo geral, foram testados 26 microrganismos em 3 réplicas, apresentados na Tabela 9. Todos os microrganismos testaram negativo.

Tabela 9. Microrganismos testados para determinar a especificidade do BD MAX Check-Points CPO

ID da cepa	Espécie	Referência	Gene B-lactamase
CP-575	<i>Campylobacter jejuni</i>	CCUG-41359	Nenhum
CP-521	<i>Citrobacter freundii</i>	N/A	CTX-M9 ESBL
CP-338	<i>Citrobacter braakii</i>	N/A	GES Carbapenemase
CP-568	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	CCUG-37874	Nenhum
CP-484	<i>Enterobacter aerogenes</i>	N/A	Nenhum
CP-034	<i>Enterobacter cloacae</i>	N/A	CTX-M9 ESBL
CP-573	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	CCUG-55879	Nenhum
CP-574	<i>Enterococcus faecalis</i>	CCUG-9997	Nenhum
CP-048	<i>Escherichia coli</i>	N/A	CTX-M1 ESBL
CP-576	<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG-17874	Nenhum
CP-058	<i>Klebsiella oxytoca</i>	N/A	CTX-M9 ESBL
CP-012	<i>Klebsiella pneumonia</i>	N/A	SHV-ESBL
CP-570	<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG-33548	Nenhum
CP-357	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	N/A	PER ESBL
CP-132	<i>Salmonella typhimurium</i>	N/A	pAmpC
CP-519	<i>Raoultella sp.</i>	N/A	SHV e CTX-M9 ESBL
CP-571	<i>Staphylococcus aureus</i>	CCUG-9128	Nenhum
CP-250	<i>Serratia marcescens</i>	N/A	Nenhum
CP-009	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	N/A	SHV e CTX-M9 ESBL; pAmpC
CP-284	<i>Acinetobacter baumannii</i>	N/A	OXA-23 Carbapenemase
CP-503	<i>Morganella morganii</i>	N/A	Nenhum
CP-319	<i>Providencia stuartii</i>	N/A	VEB ESBL
CP-567	<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG-6325	Nenhum
CP-569	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CCUG-29780	Nenhum
CP-052	<i>Proteus mirabilis</i>	N/A	pAmpC
CP-440	<i>Acinetobacter baumannii</i>	N/A	OXA-58 Carbapenemase

N/A: Cepa da coleta de cepas interna, sem número de referência disponível

Substâncias interferentes

Foram avaliadas vinte e nove (29) substâncias biológicas e químicas que podem estar ocasionalmente presentes em amostras de esfregaço retal em relação a possível interferência com o ensaio BD MAX Check-Points CPO e estas são apresentadas na Tabela 10. Todas as substâncias foram avaliadas a uma concentração teste de 0,25% w/v (2,5 mg/ml) na matriz de esfregaço retal negativa. As amostras de teste incluíram matriz de esfregaço retal negativo cultivada com organismos alvo a 3x LoD (amostras positivas) ou não cultivadas (amostras negativas). Para cada substância, foram testadas 6 amostras positivas e 6 negativas. Os resultados não demonstraram qualquer interferência reportável com qualquer uma das substâncias testadas (consultar a Tabela 10).

Tabela 10. Substâncias que não interferem com o BD MAX Check-Points CPO

Óleos e ácidos gordos	Sais metálicos	Antibióticos	Analgésicos
Ácido esteárico	Ba ₂ SO ₄	Cefalexina	Naproxeno
Ácido palmítico	CaCO ₃	Ciprofloxacina	Benzocaína
Óleo mineral	Al(OH) ₃	Polimixina B	Fenilefrina
Simeticone	Mg(OH) ₂	Bacitracina	Subsalicilato de bismuto
Colesterol		Neomicina	
Álcoois	Antagonistas de histamínicos	Surfactantes	Restantes
Resorcinol	Famotidina	Nonoxynol-9	Hidrocortisona
Etanol	Omeprazol	Cloreto de benzalcônio	Cloridrato de loperamida
	Cimetidina		Nistatina
			Sennosides

Reprodutibilidade interlaboratorial

A reprodutibilidade interlaboratorial para o ensaio BD MAX Check-Points CPO foi determinada pela análise de uma cepa por alvo misturada na matriz retal negativa em 2 concentrações diferentes (1,5 x LoD e 3 x LoD), cepa não alvo misturada na matriz de esfregaço retal negativa e matriz de esfregaço retal negativa em 3 centros diferentes por 2 operadores, usando 1 lote durante 5 dias.

Tabela 11. Resultados de reprodutibilidade interlaboratorial para o BD MAX Check-Points CPO

	KPC		NDM		OXA-48		VIM/IMP	
	+	-	+	-	+	-	+	-
1,5 x LoD (IC de 95%)	100% (60/60) (94,0-100%)		98,3% (59/60) (91,1-99,7%)		100% (60/60) (94,0-100%)		97,5% (117/120) (92,9-99,1%)	
3 x LoD (IC de 95%)	100% (60/60) (94,0-100%)		100% (60/60) (94,0-100%)		100% (60/60) (94,0-100%)		99,2% (119/120) (95,4-99,9%)	
Negativos (IC de 95%)		100% (100/100) (96,3-100%)		100% (100/100) (96,3-100%)		100% (100/100) (96,3-100%)		100% (100/100) (96,3-100%)

Em suma, a reprodutibilidade interlaboratorial variou de 100-100%, 97,5-100% e 99,2-100% para negativos, 1,5 x LoD e 3 x LoD, respetivamente.

Reprodutibilidade entre lotes

A reprodutibilidade entre lotes para o ensaio BD MAX Check-Points CPO foi determinada pela análise de uma cepa por alvo misturada na matriz retal negativa em 2 concentrações diferentes (1,5 x LoD e 3 x LoD), cepa não alvo misturada na matriz de esfregaço retal negativa e matriz de esfregaço retal negativa num centro por dois operadores, usando 3 lotes durante 5 dias.

Tabela 12. Resultados de reprodutibilidade entre lotes para o BD MAX Check-Points CPO

	KPC		NDM		OXA-48		VIM/IMP	
	+	-	+	-	+	-	+	-
1,5 x LoD (IC de 95%)	100% (60/60) (94,0-100%)		100% (60/60) (94,0-100%)		100% (60/60) (94,0-100%)		99,2% (119/120) (95,4-99,9%)	
3 x LoD (IC de 95%)	100% (60/60) (94,0-100%)		100% (60/60) (94,0-100%)		100% (60/60) (94,0-100%)		100% (120/120) (96,9-100%)	
Negativos (IC de 95%)		100% (90/90) (95,9-100%)		100% (90/90) (95,9-100%)		100% (90/90) (95,9-100%)		100% (90/90) (95,9-100%)

Em suma, a reprodutibilidade entre lotes variou de 100-100%, 99,2-100% e 100-100% para negativos, 1,5 x LoD e 3 x LoD, respetivamente.

Reprodutibilidade intralaboratorial

A reprodutibilidade intralaboratorial foi determinada pela análise de uma cepa por alvo misturada na matriz retal negativa em 2 concentrações diferentes (1,5 x LoD e 3 x LoD), cepa não alvo misturada na matriz de esfregaço retal negativa e matriz de esfregaço retal negativa num centro por 2 operadores, usando 1 lote durante 12 dias.

Tabela 13. Resultados de reprodutibilidade intralaboratorial para o BD MAX Check-Points CPO

	KPC		NDM		OXA-48		VIM/IMP	
	+	-	+	-	+	-	+	-
1,5 x LoD (IC de 95%)	100% (48/48) (92,6-100%)		100% (48/48) (92,6-100%)		97,9% (47/48) (89,1-99,6%)		99,0% (95/96) (94,3-99,8%)	
3 x LoD (IC de 95%)	97,9% (47/48) (89,1-99,6%)		100% (48/48) (92,6-100%)		100% (48/48) (92,6-100%)		100% (96/96) (96,2-100%)	
Negativos (IC de 95%)		100% (72/72) (94,9-100%)		100% (72/72) (94,9-100%)		100% (72/72) (94,9-100%)		100% (72/72) (94,9-100%)

Em suma, a reprodutibilidade intralaboratorial variou de 100-100%, 97,9-100% e 97,9-100% para negativos, 1,5 x LoD e 3 x LoD, respetivamente.

Infeções mistas/interferência concorrencial

Não foi observada qualquer interferência nos testes de treze (13) amostras com um alvo KPC, VIM, IMP, OXA-48 ou NDM das cepas com LoD conhecido misturadas a 2x LoD e um ou dois outros microrganismos alvo misturados a ~1x10⁶ UFC/ml na matriz de esfregaço retal negativa.

Contaminação por transferência

A contaminação por transferência foi avaliada ao testar as amostras negativas juntamente com as amostras positivas contendo um grande volume de bactérias portadoras dos genes de resistência a carbapenemase KPC, OXA48, NDM e VIM ou IMP. As posições das amostras negativas e positivas foram alternadas para maximizar a possibilidade de contaminação por transferência. A matriz de esfregaço retal negativa foi utilizada para as amostras negativas e para preparar as amostras positivas através da inoculação da matriz com microrganismos alvo a uma concentração de 5 x 10⁶ UFC/ml. Não foram detetadas reações positivas para um total de 166 amostras negativas.

Referências bibliográficas:

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed., CLSI. Wayne, PA.
2. Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood L.C. and Wilson D.E. (eds) (2009). HHS Publication number (CDC) 21-1112.
3. BD MAX System User's Manual (refer to the latest version) BD Diagnostics, Sparks, MD, USA.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline, document MM3 (Refer to the latest edition).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. Document EP12 (Refer to the latest edition).
6. Naas, T., Oueslati, S., Bonnin, R. A., Dabos, M. L., Zavala, A., Dortet, L., Retailleau, P. and Iorga, B. I. Beta-Lactamase DataBase (BLDB) – Structure and Function. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2017**, 32, 917-919.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabricante / Аткарушы / 제조업체 / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Уробца / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник / 生产厂商



Use by / Използвайте до / Spotřebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / 사용 기한 / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейин пайдаланура / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použite do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanna tarihi / Використати до / 使用截止日期

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce)
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måneden)
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА / (АА = айдың соңы)
 YYYY-MM-DD/YYYY-MM (MM = 월말)
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga)
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet av månaden)
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)

PPPP-MM-DD / PPPP-MM (MM = кінець місяця)

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = 月末)



Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог нөмірі / 카탈로그 번호 / Katalog / numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом / 目录号



Authorized Representative in the European Community / Оторизирани представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autoriserter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Evropskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségekben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 유럽 공동체의 위임 대표 / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentant autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Аврүра Топлүлүгү Yetkilil Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС / 欧洲共同体授权代表



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsinaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostic 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietais / Medicīnas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicīnska pomůcka na diagnostiku in vitro / Medicīnski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский прибор для диагностики in vitro / 体外诊断医疗设备



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperatuuri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / 온도 제한 / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturlimit / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenie teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури / 温度限制



Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (loto) / Топтама коды / 배치 코드 (코드) / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії / 批号 (亚批)



Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenido suficiente per <n> test / <n> тесттери үшін жеткілікті / <n> 테스트가 충분히 포함됨 / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli malmeye içerir / Вистачить для аналізів: <n> / 足够进行 <n> 次检测



Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeada kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / 사용 지침 참조 / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i brugsanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultați instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanim Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання / 请参阅使用说明



Keep dry / Пазете сухо / Skladujte v suchém prostředí / Orbevares tørt / Trocklagern / Φυλάξτε το στεγνό / Mantener seco / Hoida kuivas / Conserver au sec / Držati na suhom / Száraz helyen tartandó / Tenere all'asciutto / Құрғақ күйінде ұста / 건조 상태 유지 / Laikykite sausai / Uzglabāt sausu / Droog houden / Holdes tørt / Przechowywać w stanie suchym / Manter seco / A se feri de umezeală / Не допускать попадания влаги / Uchovávejte v suchu / Držite na suvom mestu / Förvaras torrt / Kuru bir şekilde muhafaza edin / Берегти від вологи / 请保持干燥



Perforation / Перфорация / Perforace / Perforering / Διήτρηση / Perforación / Perforatsioon / Perforacija / Perforálás / Perforazione / Тесик тесу / 절취선 / Perforacija / Perforācija / Perforatie / Perforacja / Perfuração / Perforare / Перфорация / Perforácia / Perforasyon / Перфорация / 穿孔



Keep away from light / Пазете от светлина / Nevystavujte světlu / Må ikke udsættes for lys / Vor Licht schützen / Κρατήστε το μακριά από το φως / Mantener alejado de la luz / Hoida eemal valgusest / Conserver à l'abri de la lumière / Držati dalje od svjetla / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Қаpaңыланған жерде ұста / 빛을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargāt no gaismas / Niet blootstellen aan zonlicht / Må ikke utsettes for lys / Przechowywać z dala od źródeł światła / Manter ao abrigo da luz / Feriți de lumină / Хранить в темноте / Uchovávejte mimo dosahu svetla / Držite dalje od svetlosti / Får ej utsättas för ljus / İşıktan uzak tutun / Берегти від світла / 请远离光线

Este produto é vendido sob licença e a compra deste produto não inclui direitos para utilização em determinadas aplicações de triagem de sangue e tecidos, nem para determinadas aplicações industriais. A compra deste produto permite que o adquirente use o mesmo para amplificação e deteção de sequências de ácido nucleico para fornecer diagnósticos humanos in vitro. Não é concedida qualquer patente geral ou outra licença de qualquer tipo além do direito específico de utilização pela compra de acordo com o presente documento.

Contacte o Serviço de apoio técnico da BD em www.bd.com/ds.

Check-Points Health B.V.
Binnenhaven 5
6709 PD Wageningen
Holanda

info@check-points.com
www.check-points.com



ATCC é uma marca registada da American Type Culture Collection.

NCTC é uma marca registada da Public Health England.

TaqMan é uma marca registada da Roche Molecular Systems, Inc.

© 2019 BD. BD, o logótipo da BD e outras marcas registadas são da propriedade da Becton, Dickinson and Company.