

Para uso diagnóstico *in vitro*

Para uso com o Sistema BD MAX™

P0228(10)

2020-11

Português



UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O ensaio BD MAX™ Multi Drug Resistant Tuberculosis (MDR-TB, tuberculose multirresistente), realizado no sistema BD MAX, é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo e automatizado para a detecção direta de ADN do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) em amostras de expetoração não processada ou de sedimento de expetoração concentrado, preparadas a partir de expetoração induzida ou espontânea. Nas amostras em que a presença de ADN do MTBC é detetada, o BD MAX MDR-TB também deteta mutações do gene *rpoB* associado à resistência à rifampicina, assim como mutações do gene *katG* e da região promotora *inhA*, ambas as quais estão associadas à resistência à isoniazida.

O teste utiliza a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real para a amplificação de alvos de ADN específicos e sondas de hibridização fluorogénicas de alvo específico para a detecção do ADN do MTBC, assim como o ADN associado às mutações nos genes *rpoB* e *katG* e na região promotora *inhA* associadas à TB multirresistente.

O ensaio BD MAX MDR-TB destina-se a ser utilizado em amostras de doentes para os quais existe suspeita clínica de tuberculose (TB) e que não receberam terapêutica antituberculose, ou receberam menos de três dias de terapêutica nos últimos seis meses. Este ensaio destina-se a auxiliar o diagnóstico da tuberculose pulmonar quando utilizado em conjunto com resultados clínicos e outros resultados laboratoriais.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada pela espécie do complexo *M. tuberculosis* (MTBC) e permanece um importante problema de saúde mundial, estimando-se que é responsável por 10,4 milhões de casos e 1,7 milhões de mortes anualmente.¹ A TB multirresistente (MDR-TB) é uma ameaça contínua e representa uma forma mais problemática da doença devido à resistência do MTBC à rifampicina (RIF) e à isoniazida (INH).¹ Em 2016, foram notificados 600.000 novos casos com resistência à rifampicina (RRTB), o fármaco de primeira linha mais eficaz e, entre estes, 490.000 apresentaram TB multirresistente (MDR-TB).¹ Em 2016, a OMS divulgou novas diretrizes para o teste da TB, as quais destacaram a importância dos testes moleculares rápidos para a detecção da MDR-TB.² A detecção rápida e exata do MTBC e das respetivas formas resistentes a fármacos é importante para permitir a identificação e tratamento adequado dos doentes afetados por esta doença, ajudando a reduzir a taxa de mortalidade e a disseminação da TB.³

O ensaio BD MAX MDR-TB fornece um resultado integrado para MTBC (alvos genómicos de cópia múltipla IS6110 e IS1081, assim como um alvo genómico de cópia única), resistência a RIF (códons RRDR 507-533) e resistência à INH (região promotora *inhA* e códon *katG* 315), automatiza o processo de teste e minimiza a necessidade de intervenção do operador desde o momento da colocação da amostra no sistema BD MAX até à obtenção dos resultados. O ensaio BD MAX MDR-TB, executado no sistema BD MAX, pode fornecer resultados para 24 amostras em menos de 4 horas, enquanto os métodos de cultura tradicionais e testes da resistência a fármacos podem demorar semanas.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

As amostras de expetoração não processada ou de sedimento de expetoração concentrado, preparadas a partir de expetoração induzida ou espontânea, são colhidas dos doentes e transportadas para o laboratório num recipiente de colheita à prova de fugas. É preparada uma diluição da amostra no recipiente de colheita com BD MAX STR, de modo a que a proporção final de STR:Amostra seja 2:1. Em seguida, o recipiente de colheita é agitado 10 vezes, incubado à temperatura ambiente durante 5 minutos e novamente agitado vigorosamente 10 vezes. A amostra tratada com BD MAX STR é em seguida incubada à temperatura ambiente durante 25 minutos. Utilizando uma BD MAX Transfer Pipet (pipeta de transferência), são transferidos 2,5 ml da amostra tratada com STR para um BD MAX MDR-TB Sample Tube (tubo de amostra). Em seguida, o BD MAX MDR-TB Sample Tube é fechado com uma tampa de septo e transferido para o Sistema BD MAX. Assim que a lista de trabalho for gerada e a amostra estiver carregada no instrumento BD MAX, em conjunto com uma BD MAX MDR-TB Unitized Reagent Strip (tira de reagente unificado) e PCR Cartridge (cartucho para PCR), a execução é iniciada e não é necessária qualquer outra intervenção do operador. O Sistema BD MAX automatiza os processos de preparação das amostras, incluindo a lise dos microrganismos alvo, extração e concentração de ADN, reidratação de reagentes e a amplificação e detecção da sequência alvo de ácidos nucleicos através de PCR em tempo real. A interpretação do sinal é realizada automaticamente pelo Sistema BD MAX. O ensaio também inclui um Controlo do processamento da amostra, o qual é fornecido no tubo de extração e realiza os passos de extração, concentração e amplificação. O Controlo do processamento da amostra deteta a presença de possíveis substâncias inibidoras, assim como falhas no sistema ou dos reagentes.

O Sistema BD MAX utiliza uma combinação de reagentes e de calor para realizar a lise celular e a extração de ADN. Os ácidos nucleicos libertados são capturados por esferas magnéticas de afinidade. As esferas, ligadas aos ácidos nucleicos, são lavadas e os ácidos nucleicos são extraídos por eluição através de aquecimento no tampão de eluição. O ADN eluído é neutralizado e transferido para os tubos da Master Mix para reidratar os reagentes de PCR. Após a reidratação, o Sistema BD MAX distribui um volume fixo de solução preparada para PCR no BD MAX PCR Cartridge. As microválvulas no BD MAX PCR Cartridge são seladas pelo sistema antes de iniciar a PCR para conter a mistura de amplificação e, assim, impedir a evaporação e contaminação do amplicon.

Os alvos de ADN amplificados são detetados com sondas de hidrólise (TaqMan®) marcadas numa extremidade com um corante reportador fluorescente (fluoróforo) e com uma porção de supressão na outra extremidade. São utilizadas sondas marcadas com fluoróforos diferentes para detetar os amplicons do ADN do complexo *M. tuberculosis*, da resistência à rifampicina, da resistência à isoniazida e do Controlo de Processamento da Amostra em cinco canais óticos distintos do sistema BD MAX. A deteção da resistência à rifampicina utiliza química de fusão para detetar mutações na região de 81 pares de bases da RRDR do gene *rpoB*. A deteção da resistência à isoniazida é determinada através da deteção de mutações na região promotora *inhA* e no gene *katG*. O sistema BD MAX deteta estes sinais em cada ciclo e interpreta os dados no final do programa para comunicar os resultados finais.

REAGENTES E MATERIAIS

REF	Conteúdo	Quantidade
443878	BD MAX™ MDR-TB Master Mix (E6) <i>Master Mix para PCR desidratada, que contém nucleótidos, sondas moleculares (0,006% p/v) e iniciadores (0,01% p/v) para o alvo, bem como uma enzima de PCR (3 E-14% p/v).</i>	24 testes (2 x 12 tubos)
	BD MAX™ MDR-TB Master Mix (E5) <i>Master Mix para PCR desidratada, que contém nucleótidos, sondas moleculares (0,006% p/v) e iniciadores (0,008% p/v) para o Controlo do processamento da amostra e o alvo, bem como enzima de PCR (3 E-14% p/v).</i>	24 testes (2 x 12 tubos)
	BD MAX™ MDR-TB Reagent Strips (tiras de reagente) <i>Tiras de reagente unificado que contém tampão de lavagem com 0,1% v/v de Tween® 20 e 3,8% v/v de Tween 80 (0,75 ml), tampão de eluição (0,75 ml), tampão de neutralização com 0,02% v/v of Tween 20 (0,75 ml) e solução ligante com 5% v/v de Triton® X-100 (0,75 ml) e pontas de pipeta descartáveis necessários para o processamento da amostra e a extração de ADN.</i>	24 testes
	BD MAX™ MDR-TB Extraction Tubes (tubos de extração) (E7) <i>Reagente de extração desidratado, contendo esferas magnéticas com afinidade a ADN (6,4% p/v), reagentes de protease (6,7% p/v) e o Controlo do processamento da amostra.</i>	24 testes (2 x 12 tubos)
	BD MAX™ MDR-TB Sample Tube (tubo de amostra)	24 testes (2 x 12 tubos)
	BD MAX™ Transfer Pipets (pipetas de transferência)	25
	Tampas de septo	25

EQUIPAMENTO E MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- BD MAX™ STR (reagente para tratamento de amostras) (BD, N.º de cat. 443806)
- BD MAX™ PCR Cartridges (BD, N.º de cat. 437519)
- Controlos externos
- Bata de laboratório e luvas descartáveis, sem pó
- Recipientes para resíduos biomédicos
- Cronómetro ou temporizador

Para colheita de expetoração não processada:

- Recipientes secos, limpos e à prova de fugas para a colheita de expetoração

MATERIAL RECOMENDADO MAS NÃO FORNECIDO NO KIT

- Nefelómetro
- Tubos estéreis
- Esferas de vidro estéreis, 3–5 mm
- Meio de cultura (meio líquido MGIT™ ou 7H9)
- Middlebrook OADC
- Placas de ágar 7H10/7H11
- Soro fisiológico com tampão fosfato
- Espalhadores para placas
- Agitador de vórtex
- BD BBL™ MycoPrep™

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Perigo



H312 Nocivo em contacto com a pele.

H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H315 Provoca irritação cutânea.

H317 Pode provocar uma reação alérgica cutânea.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H334 Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias.

H335 Pode provocar irritação das vias respiratórias.

H411 Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

H412 Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P260 Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

P261 Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

P264 Lavar cuidadosamente após manuseamento.

P272 A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.

P273 Evitar a libertação para o ambiente.

P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P285 Em caso de ventilação inadequada, usar proteção respiratória.

P301+P330+P331 EM CASO DE INGESTÃO: enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito.

P312 Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água (ou tomar um duche).

P363 Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar.

P321 Tratamento específico (ver no presente rótulo).

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.

P310 Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

P302+P352 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Lavar com água abundante/...

P333+P313 Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

P337+P313 Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

P391 Recolher o produto derramado.

P405 Armazenar em local fechado à chave.

P403+P233 Armazenar em local bem ventilado. Manter o recipiente bem fechado.

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente em instalações adequadas de tratamento e eliminação, de acordo com os regulamentos locais/regionais/nacionais/internacionais e com as características do produto aquando da eliminação.

- O ensaio BD MAX MDR-TB destina-se a uso diagnóstico *in vitro*.
- Para obter um desempenho ideal, o ensaio BD MAX MDR-TB deve ser executado dentro dos limites ambientais de laboratório entre 18 °C e 28 °C e dentro dos limites de humidade relativa de laboratório entre 20 e 80%.
- O ensaio BD MAX MDR-TB destina-se a ser utilizado para testar amostras de expetoração não processada ou de sedimento de expetoração concentrado, preparadas a partir de expetoração induzida ou espontânea.
- Não utilize reagentes e/ou materiais após o prazo de validade.
- Não utilize o kit se o rótulo de segurança da caixa exterior estiver partido quando fornecido.
- Não utilize os reagentes se as saquetas protetoras estiverem abertas ou danificadas quando fornecidas.
- Não utilize os reagentes se o excicante não estiver presente ou estiver danificado no interior das saquetas de reagente.
- Não retire o excicante das saquetas de reagentes.
- Feche as saquetas protetoras dos reagentes rapidamente com o fecho de correr após cada utilização. Elimine a presença excessiva de ar nas saquetas antes de selar.
- Proteja os reagentes do calor e da humidade. A exposição prolongada à humidade pode afetar o desempenho do produto.
- Não utilize os reagentes se a folha de alumínio estiver quebrada ou danificada.
- Não misture os reagentes de saquetas e/ou kits e/ou lotes diferentes.

- Não troque nem reutilize as tampas depois de utilizadas num tubo com amostras tratadas com STR, dado que pode ocorrer contaminação e compromisso dos resultados do teste.
- Não reutilize o BD MAX Sample Tube.
- Verifique se as tiras de reagente unificado apresentam níveis corretos de líquido (certifique-se de que os líquidos estão no fundo dos reservatórios de reagente) (consulte a Figura 1).
- Verifique se todas as pontas de pipeta estão presentes nas tiras de reagente unificado (consulte a Figura 1).
- Tenha cuidado ao utilizar soluções químicas, visto que podem alterar a legibilidade dos códigos de barras do tubo de Master Mix e do tubo de extração.
- Uma boa técnica de laboratório é essencial para o desempenho adequado deste ensaio. Em virtude da elevada sensibilidade analítica deste teste, deverá ser tomada extrema precaução para preservar a pureza de todos os materiais e reagentes.
- Se forem realizados outros testes de PCR nas mesmas áreas gerais do laboratório, deve ter-se o cuidado de assegurar que o kit BD MAX MDR-TB, todos os reagentes adicionais necessários para o teste e o Sistema BD MAX não estão contaminados. Evite a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) dos reagentes em todos os momentos. As luvas devem ser substituídas antes de manusear reagentes e o cartucho.
- Para evitar a contaminação do ambiente com amplicons, não desfaça o BD MAX PCR Cartridge após a utilização. Os vedantes nos BD MAX PCR Cartridges destinam-se a impedir a contaminação.
- O laboratório deve efetuar monitorização ambiental por rotina para minimizar o risco de contaminação cruzada.
- A realização do BD MAX MDR-TB fora dos intervalos de tempo e de temperatura recomendados para o transporte e armazenamento das amostras pode produzir resultados inválidos. Os ensaios não realizados dentro dos intervalos de tempo e de temperatura especificados devem ser repetidos.
- Podem testar-se controlos adicionais de acordo com as diretrizes ou requisitos regulamentares locais, nacionais e/ou comunitários ou de organizações de acreditação.
- As amostras devem ser sempre manuseadas como se fossem infecciosas e de acordo com os procedimentos de segurança laboratorial, tais como os descritos no documento M29⁴ do CLSI e em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.⁵
- Utilize vestuário protetor e luvas descartáveis durante o manuseamento de qualquer reagente.
- Lave cuidadosamente as mãos depois de realizar o teste.
- Não pipete com a boca.
- Não fume, nem beba, não mastigue nem coma em áreas onde ocorre manuseamento de amostras e reagentes do kit.
- Elimine os reagentes não utilizados e os resíduos em conformidade com os regulamentos locais, nacionais e/ou comunitários.
- Consulte o Manual do Utilizador do Sistema BD MAX⁸ para obter advertências, precauções e procedimentos adicionais.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

As amostras colhidas de expetoração não processada devem ser mantidas entre 2 °C e 35 °C durante o transporte, não excedendo a duração de 3 dias. Proteja contra a exposição a calor excessivo.

Expetoração não processada: a amostra pode ser armazenada durante 168 horas adicionais (7 dias) a 2–8 °C antes do tratamento com STR.

Sedimento de expetoração: a amostra pode ser armazenada durante 168 horas (7 dias) a 2–8 °C antes do tratamento com STR.

As amostras tratadas com BD MAX STR podem ser armazenadas a 2–28 °C durante um prazo máximo de 72 horas.

Os BD MAX MDR-TB Sample Tubes preparados podem ser armazenados a 2–28 °C durante um prazo máximo de 72 horas após o tratamento com STR.

Os componentes do ensaio BD MAX MDR-TB são estáveis a 2–28 °C até à data de validade indicada. Não utilize componentes após o prazo de validade.

Os BD MAX MDR-TB Master Mix e Extraction Tubes são fornecidos em bolsas seladas. Para proteger o produto da humidade, volte a selar imediatamente depois de abrir. Os tubos de reagentes são estáveis durante um período máximo de 14 dias a 2–28 °C após a abertura inicial e resselagem da bolsa.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Colheita/Transporte de amostras

Para obter uma amostra adequada, deve seguir-se cuidadosamente o procedimento para a colheita de amostras. A colheita e o transporte de todas as amostras devem ser efetuados de acordo com as recomendações do Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Centro de Controlo e Prevenção de Doenças),⁵ do *Clinical Microbiology Procedures Handbook*⁶ ou do manual de procedimentos da sua instituição. Os doentes devem estar sentados ou de pé durante a colheita de expetoração não processada. Os doentes devem enxaguar a boca para remover quaisquer eventuais resíduos ou partículas de comida antes da colheita de expetoração.

As amostras de expetoração não processada ou de sedimento de expetoração concentrado, preparadas a partir de expetoração induzida ou espontânea, são colhidas de acordo com o procedimento seguinte:

NOTA: Rejeite as amostras que apresentem obviamente partículas de comida ou outras partículas sólidas.

1. Expetoração não processada: efetue a colheita de 1 ml de expetoração para um recipiente de colheita de expetoração à prova de fugas. Identifique o recipiente com uma etiqueta e proceda ao transporte para o laboratório (consulte a secção Armazenamento e estabilidade).
2. Sedimento de expetoração: descontamine a amostra de expetoração com NALC/NaOH de acordo com o método de Kent e Kubica.⁷ Efetue a ressuspensão do sedimento num volume máximo de 2 ml de tampão fosfato/água a 67 mM. Identifique o recipiente com uma etiqueta e proceda ao transporte para o laboratório (consulte a secção Armazenamento e estabilidade). O teste BD MAX MDR-TB exige um volume de, no mínimo, 1 ml.

Preparação das amostras

NOTA: O ensaio BD MAX MDR-TB apenas pode ser utilizado com o kit BD MAX STR. Os passos de processamento para a expetoração e sedimentos de expetoração podem ser consultados no folheto informativo BD MAX STR.

NOTA: Para cada amostra e cada controlo externo a testar, é necessário um (1) tubo BD MAX STR, uma (1) pipeta de transferência, um (1) tubo de amostra, uma (1) tampa de septo, dois (2) tubos de Master Mix (um [E6] e um [E5]), um (1) tubo de extração [E7] e uma (1) tira de reagente unificado. Retire o número necessário de materiais das saquetas ou embalagens de proteção e coloque-os de parte. Para armazenar as saquetas da Master Mix ou do tubo de extração depois de abrir, retire o excesso de ar e feche com o fecho de correr.

1. Aplique uma etiqueta com a identificação correta da amostra num BD MAX MDR-TB Sample Tube com código de barras (tampa transparente). Não tape nem escreva sobre o código de barras 2D.
Por cada amostra de expetoração não processada ou de sedimento de expetoração: (os passos 2 a 7 descrevem a utilização do BD MAX STR [Não fornecido]. Para obter mais informações, consulte o folheto informativo BD MAX STR.)
2. Deixe a amostra atingir a temperatura ambiente.
3. Abra cuidadosamente a tampa do recipiente de colheita de expetoração à prova de fugas, tendo cuidado para evitar derrames.
4. Abra cuidadosamente o tubo de BD MAX STR e adicione o volume necessário para obter uma proporção final STR:Amostra de 2:1.
5. Tape o recipiente de colheita e agite vigorosamente (sem recorrer ao vórtex) a solução 10 vezes (um movimento para cima e um movimento para baixo representam conjuntamente 1 vez).
6. Deixe incubar à temperatura ambiente durante 5 minutos e volte a agitar vigorosamente 10 vezes.
7. Proceda à incubação da amostra tratada com BD MAX STR à temperatura ambiente durante 25 minutos.
8. Retire a tampa do BD MAX MDR-TB Sample Tube e conserve a tampa rígida se pretender armazenar a amostra.
9. Utilizando a pipeta de transferência fornecida, transfira 2,5 ml da amostra de expetoração tratada com STR para um BD MAX MDR-TB Sample Tube. Confirme que a ID da amostra no BD MAX MDR-TB Sample Tube corresponde à etiqueta no recipiente de colheita.
10. Feche o BD MAX MDR-TB Sample Tube com uma tampa de septo azul.
11. Repita os passos 1 a 10 para preparar qualquer amostra adicional para teste, antes de manusear amostras adicionais.
12. Avance para a secção Operação do Sistema BD MAX para realizar o teste BD MAX MDR-TB no Sistema BD MAX.

Operação do Sistema BD MAX

NOTA: Consulte o Manual do Utilizador do Sistema BD MAX⁸ para obter instruções detalhadas (consulte a secção Operação).

NOTA: O teste do kit BD MAX MDR-TB deve ser realizado imediatamente após a transferência da amostra tratada com STR para o tubo de amostra acima (consulte “Preparação das amostras”, passo 9).

1. Ligue o Sistema BD MAX (se não estiver já ligado) e introduza o <user name> (nome de utilizador) e a <password> (palavra-passe), para iniciar sessão.
2. As luvas devem ser substituídas antes de manusear reagentes e cartuchos.
3. Retire o número necessário de tiras de reagente unificado do kit BD MAX MDR-TB. Bata suavemente com cada tira contra uma superfície rígida para assegurar que todos os líquidos estão no fundo dos tubos.
4. Retire o número necessário de tubo(s) de extração e tubo(s) de Master Mix das saquetas protetoras do kit BD MAX MDR-TB.
5. Elimine a presença excessiva de ar e feche as saquetas com o fecho de correr.
6. Por cada amostra para teste, coloque uma (1) tira de reagente unificado no BD MAX System Rack (suporte do sistema), começando na posição 1 do suporte A.
7. Encaixe um (1) tubo de extração (E7) (película branca) em cada tira de reagente unificado na posição 1, conforme ilustrado na Figura 1.
8. Encaixe um (1) BD MAX MDR-TB Master Mix Tube (E6) (película verde) em cada tira de reagente unificado na posição 2, conforme ilustrado na Figura 1.
9. Encaixe um (1) BD MAX MDR-TB Master Mix Tube (E5) (película azul) em cada tira de reagente unificado na posição 4, conforme ilustrado na Figura 1.

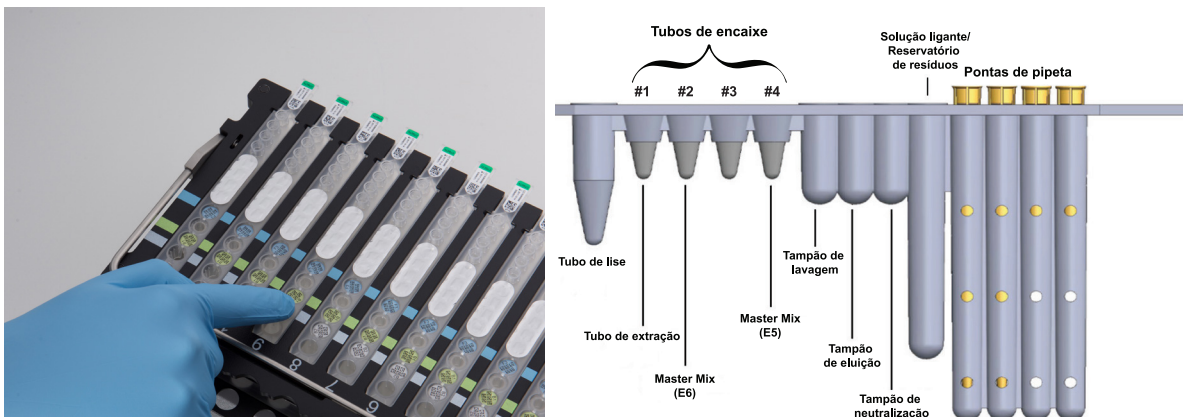


Figura 1: Encaixar os BD MAX MDR-TB Extraction Tubes e BD MAX MDR-TB Master Mix Tubes nas tiras de reagente unificado

10. Clique no ícone Run (Executar) e, em seguida, em Inventory (Inventário). Introduza o número de lote do kit para o kit BD MAX MDR-TB (para fins de controlo do lote) manualmente ou lendo o código de barras com o leitor para esse efeito (indicado na caixa exterior).

NOTA: Repita o passo 10 sempre que for utilizado um novo lote de kit.

11. Navegue para Worklist (Lista de trabalho). Utilize o menu pendente para seleccionar <BD MAX MDR TB 70>.
12. Introduza a BD MAX MDR-TB Sample Tube ID (ID do tubo de amostra), Patient ID (ID do doente) e Accession Number (Número de acesso) na Worklist (Lista de trabalho), manualmente ou efetuando a leitura do código de barras com o leitor para esse efeito.
13. Selecione o número de lote do kit apropriado (indicado na caixa exterior do kit BD MAX MDR-TB) no menu pendente.
14. Repita os passos 11 a 13 para todos os restantes tubos de amostra.
15. Coloque os tubos de amostra no(s) BD MAX System Rack(s) correspondentes às tiras de reagente unificado montadas nos passos 6 a 9.

NOTA: Coloque os tubos de amostra no suporte de amostras com as etiquetas de código de barras 1D virados para fora (para facilitar a leitura dos tubos de amostra durante o registo de amostras).

16. Coloque o número necessário de BD MAX PCR Cartridge(s) no Sistema BD MAX (consulte a Figura 2):
 - Cada BD MAX PCR Cartridge tem capacidade para 12 amostras.
 - O Sistema BD MAX seleciona automaticamente a posição e linha no BD MAX PCR Cartridge para cada execução. Os BD MAX PCR Cartridges podem ser usados várias vezes até ter utilizado todos os corredores.
 - Para maximizar a utilização dos BD MAX PCR Cartridges, no 2000 Sample Mode (Modo de amostra 2.000), selecione Run Wizard (Assistente de execução) no separador Worklist (Lista de trabalho) para distribuir os corredores.
 - Consulte o Manual do Utilizador do Sistema BD MAX⁸ para obter mais pormenores.



Figura 2: Introduzir os BD MAX PCR Cartridges

17. Introduza o(s) suporte(s) no Sistema BD MAX (consulte a Figura 3).

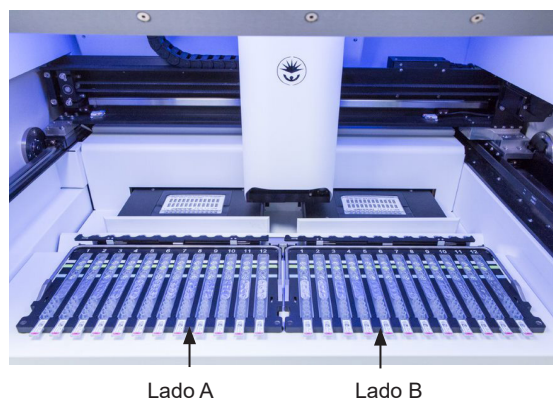


Figura 3: Introduzir o(s) suporte(s) no Sistema BD MAX

18. Feche a tampa do Sistema BD MAX e clique em <Start> (Iniciar) para iniciar o processamento.

19. No final da execução, verifique os resultados imediatamente ou armazene os tubos de amostra a 2–28 °C durante um prazo máximo de 72 horas após o tratamento com STR, até os resultados serem verificados.

NOTA: Substitua a tampa de septo por uma tampa rígida antes de armazenar a amostra.

NOTA: Os BD MAX MDR-TB Sample Tubes preparados podem ser armazenados a 2–28 °C durante um prazo máximo de 72 horas. Quando for obtido um resultado Indeterminate (IND, Indeterminado), Unresolved (UNR, Não resolvido) ou Incomplete (INC, Incompleto), ou quando ocorre uma falha do controlo externo, é necessário repetir o teste a partir do mesmo tubo de amostra preparado dentro deste período de tempo (consulte a secção Procedimento de repetição do teste).

NOTA: Se ocorrer uma falha do controlo externo, repita o teste de todas as amostras utilizando preparações novas de controlos externos (consulte a secção “Controlo de qualidade”).

CONTROLO DE QUALIDADE

Os procedimentos de controlo de qualidade monitorizam o desempenho do ensaio. Os laboratórios devem estabelecer o número, tipo e frequência de testes dos materiais de controlo de acordo com as orientações ou requisitos dos regulamentos locais, nacionais e/ou comunitários ou de organizações de acreditação, com vista a monitorizar a eficácia de todo o processo analítico. Para obter orientações gerais de Controlo de Qualidade, o utilizador pode pretender consultar o documento CLSI MM3⁹ e EP12.¹⁰

1. Os materiais de controlo externo não são fornecidos pela BD. Os controlos externos, positivo e negativo, não são utilizados pelo software do Sistema BD MAX para fins de interpretação dos resultados de teste das amostras. Os controlos externos são tratados como amostras de doente. É necessário BD MAX STR para preparar os controlos externos. (Consulte o quadro na secção “Interpretação dos resultados” para obter informações sobre a interpretação dos resultados de ensaio do controlo externo.)
2. Um Controlo positivo externo e um Controlo negativo externo devem ser executados diariamente, no mínimo, até obter uma validação adequada do processo no Sistema BD MAX em cada ambiente de laboratório. Uma frequência reduzida de testes de controlo deverá estar em conformidade com os regulamentos aplicáveis.
3. O Controlo positivo externo destina-se a monitorizar uma falha significativa dos reagentes. O Controlo negativo externo é utilizado para detetar contaminação dos reagentes ou ambiental (ou “carryover”) por ácidos nucleicos alvo.
4. As estirpes de controlo devem ser testadas de acordo com as diretrizes ou requisitos regulamentares locais, nacionais e/ou comunitários ou de organizações de acreditação, com vista a monitorizar a eficácia de todo o processo analítico.
5. Recomendam-se vários tipos de Controlo externo para permitir ao utilizador selecionar o controlo mais adequado para a qualidade laboratorial.
 - a. Os Controlos negativos externos têm de conter 2,5 ml de solução STR (2 partes STR: 1 parte água desionizada).
 - b. Controlo positivo externo: uma suspensão de qualquer microrganismo do complexo *M. tuberculosis* confirmado, adquirida comercialmente ou obtida através de procedimentos de isolamento de cultura ou de uma amostra previamente caracterizada e confirmada como positiva.

Se forem utilizados microrganismos de controlo:

- a. Cultive o microrganismo em meio líquido 7H9 ou MGIT, suplementado com OADC a 37 °C. Deixe crescer até obter uma turvação aproximada $\geq 0,5$ McFarland (tipicamente 7 a 10 dias, mas o crescimento pode ser mais demorado com certas estirpes).
- b. Remova a cultura líquida por centrifugação a 3.000 g durante 10 minutos.
- c. Volte a suspender o microrganismo em soro fisiológico com tampão fosfato (PBS).
- d. Transfira a suspensão para um tubo estéril contendo até dez (10) esferas de 3-5 mm. Agite a cultura no vórtex durante aproximadamente 30 segundos.

- e. Deixe a suspensão assentar durante aproximadamente 5 minutos para permitir que as partículas de maiores dimensões atinjam o fundo do tubo.
 - f. Transfira a suspensão para um novo tubo estéril, evitando os aglomerados no fundo do tubo e mantendo uma turvação $\geq 0,5$ McFarland.
 - 1) As dimensões do tubo devem ser específicas para o nefelômetro.
 - g. Efetue diluições em série e aplique o microrganismo em placas de ágar (7H10 ou 7H11) para quantificação. Deixe as placas de ágar a incubar a 37 °C durante 2 a 4 semanas.
 - h. Após obter a quantificação do microrganismo, dilua o microrganismo para uma concentração de 1×10^5 UFC/ml em PBS.
 - 1) A suspensão pode ser preparada com a diluição final, dividida em alíquotas de 300 µl, congelada e utilizada para testes de rotina.
 - i. Adicione 2,25 ml de solução STR (2 partes STR: 1 parte de água desionizada) ao tubo de amostra.
 - j. Adicione 250 µl da diluição final ao BD MAX MDR-TB Sample Tube e volte a tapar o tubo com uma tampa de septo azul.
 - k. Efetue o processamento do controlo externo como se tratasse de uma amostra de doente, de acordo com o procedimento indicado na secção "Operação do Sistema BD MAX".
6. Todos os controlos externos devem produzir os resultados esperados (positivo para o Controlo positivo externo, negativo para o Controlo negativo externo), sem falhas nos controlos externos (resultado Não resolvido ou Indeterminado). Consulte o quadro abaixo para determinar os resultados aceitáveis para o Controlo positivo externo:

Microrganismo <i>M. tuberculosis</i> ou amostra caracterizada	Resultado de ensaio
Sensível a RIF e sensível a INH	MTB detetado, resistência à RIF NÃO detetada, resistência à INH NÃO detetada
Sensível a RIF/Resistente a INH	MTB detetado, resistência à RIF NÃO detetada, resistência à INH detetada
Resistente a RIF/Sensível a INH	MTB detetado, resistência à RIF detetada, resistência à INH NÃO detetada
Resistente a RIF/Resistente a INH	MTB detetado, resistência à RIF detetada, resistência à INH detetada

- a. A obtenção de um resultado de teste positivo num Controlo negativo externo indica um problema no manuseamento da amostra e/ou ocorrência de contaminação. Reveja a técnica de manuseamento de amostras para evitar trocas e/ou contaminação. A obtenção de um resultado negativo num Controlo positivo externo indica um problema no manuseamento/preparação da amostra. Reveja a técnica de manuseamento/preparação de amostras.
- b. A obtenção de um resultado de teste Não resolvido, Indeterminado ou Incompleto num Controlo externo indica uma falha num reagente ou no Sistema BD MAX. Verifique a presença de mensagens de erro no monitor do Sistema BD MAX. Consulte a secção Resolução de problemas do Manual do Utilizador do Sistema BD MAX^s para obter informações acerca da interpretação dos códigos de advertência e de erro. Se o problema persistir, utilize reagentes de uma saqueta não aberta ou utilize um kit BD MAX MDR-TB novo.
- c. Cada BD MAX MDR-TB Extraction Tube contém um Controlo do processamento da amostra, o qual consiste num plasmídeo com uma sequência sintética de ADN alvo. O Controlo do processamento da amostra é extraído, eluído e amplificado juntamente com qualquer ADN alvo existente na amostra processada. O Controlo do processamento da amostra monitoriza a eficiência da captura, lavagem e eluição de ADN durante os passos de processamento da amostra, assim como a eficiência da amplificação e deteção do alvo de ADN durante a análise de PCR. Se o resultado do Controlo do processamento da amostra não cumprir os critérios de aceitação, o resultado da amostra é assinalado como Não resolvido; no entanto, todos os resultados de ensaio positivos para MTBC ["MTB Detected" (MTB detetado)] serão assinalados. Repita as amostras com resultados Não resolvidos de acordo com a secção "Procedimento de repetição do teste" abaixo.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados são disponibilizados no separador <Results> (Resultados) na janela <Results> no monitor do Sistema BD MAX. O software do Sistema BD MAX interpreta os resultados de teste automaticamente. São indicados resultados para cada um dos analitos e para o Controlo do processamento da amostra. Um resultado de teste pode ser comunicado como MTB Detected (MTB detetado), MTB Low POS (MTB positivo baixo), MTB NOT Detected (MTB NÃO detetado), RIF Resistance Detected (Resistência a RIF detetada), RIF Resistance NOT Detected (Resistência à RIF NÃO detetada), RIF Resistance UNREPORTABLE (Resistência à RIF NÃO REPORTÁVEL), INH Resistance Detected (Resistência à INH detetada) [incluindo notificação *katG Mut NOT Detected* (*Mut. katG NÃO detetada*); *katG Mut Detected* (*Mut. katG detetada*); *inhApr Mut NOT detected* (*Mut. inhApr NÃO detetada*); *inhApr Mut Detected* (*Mut. inhApr detetada*)], INH Resistance NOT Detected (Resistência à INH NÃO detetada), INH Resistance UNREPORTABLE (Resistência à INH NÃO REPORTÁVEL) ou UNR (Não resolvido), com base no estado da amplificação do alvo e do Controlo do Processamento da Amostra. Os resultados IND (Indeterminado) ou INC (Incompleto) devem-se a falhas do Sistema BD MAX. A interpretação dos resultados do BD MAX MDR-TB é descrita no Quadro 1, abaixo.

Quadro 1: Interpretação dos resultados do ensaio BD MAX MDR-TB

RESULTADO DE ENSAIO REPORTADO		INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO
MTB detetado		ADN do complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> detetado
MTB POS baixo		ADN do complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> detetado, mas a métrica de resistência não pode ser medida; ≥ 2 sondas de <i>RRDR</i> ^a , <i>katG</i> ou região promotora <i>inhA</i> não produziram sinal, o que indica carga bacteriana baixa
MTB NÃO detetado		ADN do complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> não detetado e Controlo do processamento da amostra detetado
Resistência à RIF detetada		Mutação(ões) em <i>RRDR</i> ^a detetadas
Resistência à RIF NÃO detetada		Não foram detetadas mutação(ões) em <i>RRDR</i> ^a
Resistência à RIF NÃO REPORTÁVEL		ADN do complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> detetado, mas a métrica de resistência à RIF não pode ser medida; uma única sonda de <i>rpoB</i> não produziu um sinal, enquanto as restantes sondas de <i>rpoB</i> produziram sinais do tipo selvagem
Resistência à INH detetada^c	Mut. <i>katG</i> NÃO detetada	ADN de resistência à INH detetado; não foram detetadas mutações no alvo de ensaio <i>katG</i>
	Mut. <i>katG</i> detetada	ADN de resistência à INH detetado; mutação(ões) no alvo de ensaio <i>katG</i> detetada(s)
	Mut. <i>inhA</i>^b NÃO detetada	ADN de resistência à INH detetado; não foram detetadas mutações no alvo de ensaio da região promotora <i>inhA</i>
	Mut. <i>inhA</i>^b detetada	ADN de resistência à INH detetado; mutação(ões) no alvo de ensaio da região promotora <i>inhA</i> detetada(s)
Resistência à INH NÃO detetada		Não foram detetadas mutações nos alvos de ensaio <i>katG</i> e região promotora <i>inhA</i>
Resistência à INH NÃO REPORTÁVEL		ADN do complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> detetado, mas a métrica de resistência à INH não pode ser medida; a sonda de <i>katG</i> ou da região promotora <i>inhA</i> não produziu um sinal, enquanto a outra sonda produziu um sinal do tipo selvagem
MTB não resolvido (MTB UNR)		ADN do complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> não detetado e Controlo o processamento da amostra não detetado (indicativo de uma amostra inibidora ou falha dos reagentes)
Indeterminado (IND)		Indeterminado devido a falha do Sistema BD MAX (com códigos de Advertência ou Erro ^d)
Incompleto INC)		Execução incompleta (com códigos de Advertência ou Erro ^d)

^a RRDR = Região de determinação da resistência à rifampicina (região de 81 bp do gene *rpoB*, codões 507–533)

^b *inhA* = região promotora *inhA*

^c Se a resistência *katG* ou *inhA* (Mut. NÃO detetada ou Mut. detetada) não for reportada com o resultado Resistência à INH detetada, a determinação para esse alvo não é reportável. A sonda de ensaio para esse alvo não produziu um sinal.

^d Consulte a secção “Resolução de problemas” do Manual do Utilizador do Sistema BD MAX[®] para obter informações acerca da interpretação dos códigos de advertência e de erro.

PROCEDIMENTO DE REPETIÇÃO DO TESTE

NOTA: O BD MAX MDR-TB Sample Tube contém volume suficiente para efetuar um teste de repetição. Para BD MAX MDR-TB Sample Tubes preparados e armazenados a 2–28 °C, a repetição do teste tem de ser realizada no prazo de 72 horas após o tratamento inicial da amostra com BD MAX STR. A amostra de expetoração tratada com STR restante também pode ser utilizada para a repetição do teste dentro do prazo de 72 horas, se for armazenada a 2–28 °C.

NOTA: É possível testar amostras novas na mesma execução em que são repetidas amostras.

MTB positivo baixo

Os resultados MTB Low POS (MTB positivo baixo) são obtidos quando a(s) amostra(s) é/são positiva(s) para MTB e existe perda de sinal para ≥ 2 sondas de alvos de resistência, assinalando uma carga bacteriana entre os limites de deteção dos ensaios de deteção de MTB e de determinação da resistência.

O teste pode ser repetido, conforme descrito acima, mas é provável que os resultados da resistência não sejam reportados, visto que a carga bacteriana na amostra poderá estar abaixo dos limites de deteção para os ensaios de RIF e/ou INH.

A(s) amostra(s) pode(m) ser repetida(s) a partir do(s) tubo(s) de amostra correspondente(s) dentro dos períodos de tempo definidos acima. Reinicie o processo a partir da secção “Operação do Sistema BD MAX”. A amostra de expetoração restante também pode ser utilizada para a repetição do teste, preparando um novo tubo de amostra, dentro dos prazos definidos acima. Reinicie o processo a partir da secção Preparação das amostras.

Resistência à RIF ou INH não reportável

Os resultados Resistência não reportável poderão ser obtidos quando existe perda de sinal para uma sonda do alvo de resistência. O teste deverá ser repetido conforme descrito acima.

A(s) amostra(s) pode(m) ser repetida(s) a partir do(s) tubo(s) de amostra correspondente(s) dentro dos períodos de tempo definidos acima. Reinicie o processo a partir da secção “Operação do Sistema BD MAX”. A amostra de expetoração restante também pode ser utilizada para a repetição do teste, preparando um novo tubo de amostra, dentro dos prazos definidos acima. Reinicie o processo a partir da secção Preparação das amostras.

Resultado MBT não resolvido

É possível obter resultados MTB não resolvido quando ocorre inibição associada à amostra ou uma falha dos reagentes que impede a amplificação correta do alvo e/ou do Controlo do processamento da amostra. Se o Controlo do processamento da amostra não for amplificado, a amostra será comunicada como MTB UNR (MTB não resolvido). O teste deverá ser repetido conforme descrito acima.

A(s) amostra(s) pode(m) ser repetida(s) a partir do(s) tubo(s) de amostra correspondente(s) dentro dos períodos de tempo definidos acima. Reinicie o processo a partir da secção “Operação do Sistema BD MAX”. A amostra tratada com STR restante também pode ser utilizada para a repetição do teste, preparando um novo tubo de amostra, dentro dos prazos definidos acima. Reinicie o processo a partir da secção Preparação das amostras.

Resultado indeterminado

Podem vir a ser obtidos resultados indeterminados quando ocorrer uma falha do sistema. A(s) amostra(s) pode(m) ser repetida(s) a partir do(s) tubo(s) de amostra correspondente(s) dentro dos períodos de tempo definidos acima. Reinicie o processo, seguindo a secção “Operação do Sistema BD MAX”. A amostra tratada com STR restante, preparada num novo tubo de amostra, também pode ser utilizada para a repetição do teste dentro do prazo definido acima. Reinicie o processo a partir da secção “Preparação das amostras”. Para obter informações acerca da interpretação das mensagens de código de advertência ou de erro, consulte o Manual do Utilizador do Sistema BD MAX⁸ (secção Resolução de problemas).

Resultado incompleto

É possível obter resultados incompletos se a Preparação das amostras ou a PCR não for concluída com êxito. A(s) amostra(s) pode(m) ser repetida(s) a partir do(s) tubo(s) de amostra correspondente(s) dentro dos períodos de tempo definidos acima. Reinicie o processo, seguindo a secção “Operação do Sistema BD MAX”. A amostra tratada com STR restante, preparada num novo tubo de amostra, também pode ser utilizada para a repetição do teste dentro do prazo definido acima. Reinicie o processo a partir da secção “Preparação das amostras”. Para obter informações acerca da interpretação das mensagens de código de advertência ou de erro, consulte o Manual do Utilizador do Sistema BD MAX⁸ (secção Resolução de problemas).

Falha do controlo externo

Os controlos externos devem produzir os resultados de teste esperados. Se for necessário repetir as amostras devido a um resultado incorreto do controlo externo, devem ser repetidas a partir dos respetivos tubos de amostra em conjunto com preparações novas de controlos externos dentro dos prazos definidos acima. Reinicie o processo, seguindo a secção “Operação do Sistema BD MAX”.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Este produto deve ser utilizado apenas com o Sistema BD MAX por pessoal de laboratório qualificado.
- Este produto destina-se a ser utilizado apenas com amostras de expetoração não processada ou de sedimento de expetoração concentrado, tratadas com BD MAX STR, preparadas a partir de expetoração induzida ou espontânea.
- Podem ocorrer resultados do teste erróneos decorrentes de uma colheita, manuseamento ou armazenamento de amostras incorretos, erro técnico, troca de amostras ou quando o número de microrganismos na amostra é inferior à sensibilidade analítica do teste.
- Se o resultado do ensaio BD MAX MDR-TB for IND (Indeterminado), INC (Incompleto) ou UNR (Não resolvido), o teste deverá ser repetido.
- Foi observada interferência com o ensaio BD MAX MDR-TB na presença de mucina a níveis superiores a 1,5% p/v (Quadro 24, secção Características do desempenho).
- Um resultado positivo no ensaio BD MAX MDR-TB não indica necessariamente a presença de microrganismos viáveis. Contudo, é indicativo da presença de ADN alvo.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação ao iniciador ou sonda podem afetar a deteção de variantes novas ou desconhecidas dos alvos, produzindo um resultado incorreto no ensaio BD MAX MDR-TB.
- Tal como acontece com todos os testes baseados em PCR, é possível detetar níveis extremamente baixos de alvo, abaixo do LdD do ensaio, mas pode não ser possível reproduzir estes resultados.
- Os resultados falsos negativos podem ocorrer devido a perda de ácidos nucleicos resultante de colheita, transporte ou armazenamento de amostras incorretos, ou devido a uma lise bacteriana desadequada. O Controlo do processamento da amostra foi adicionado ao teste para auxiliar na identificação de amostras que contêm inibidores da amplificação da PCR e como um controlo da integridade dos reagentes e do sistema de ensaio de uma forma geral. O Controlo do processamento da amostra não indica se ocorreu perda de ácidos nucleicos resultante de colheita, transporte ou armazenamento de amostras incorretos, nem se a lise bacteriana foi desadequada.
- Os resultados do BD MAX MDR-TB podem ser afetados, ou não, pela terapêutica médica concomitante, a qual pode reduzir a quantidade de alvo presente.
- Este teste é um teste qualitativo e não fornece valores quantitativos, nem indica a quantidade de microrganismos presentes.
- O desempenho do ensaio BD MAX MDR-TB não foi avaliado com amostras de doentes pediátricos.

VALORES ESPERADOS

A taxa de positividade das amostras que são positivas para *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), resistência à rifampicina (RIF) e resistência à isoniazida (também designada isonicotil hidrazina, INH) depende da população de doentes. Os fatores relevantes incluem o país de origem. No estudo clínico do BD MAX MDR-TB (março de 2016–agosto de 2017), foram colhidas 761 amostras de expetoração prospectivas em países com conhecida alta incidência de casos de TB e MDR-TB, sendo em seguida congeladas. Cada amostra de expetoração foi dividida em duas (2) porções: uma porção para digestão pelo método digestivo de NALC/NaOH⁷ (processada) e uma porção considerada a amostra não processada (sem digestão). O ensaio BD MAX MDR-TB foi executado nas duas porções. A taxa de positividade de MTB foi calculada para as 635 porções de expetoração não processada e 674 porções de expetoração processada que estavam em conformidade, ao nível da amostra e do ensaio BD MAX MDR-TB, com um resultado comunicável (Quadro 2). A taxa de positividade de RIF foi calculada para as 316 porções de expetoração não processada e 334 porções de expetoração processada que estavam em conformidade, ao nível da amostra e do ensaio BD MAX MDR-TB, com um resultado reportável para RIF. A taxa de positividade de INH foi obtida para as 327 porções de expetoração não processada e 338 porções de expetoração processada que estavam em conformidade, ao nível da amostra e do BD MAX MDR-TB, com um resultado reportável para INH. Estas amostras foram obtidas de 6 países.

Quadro 2: Positividade BD MAX MDR-TB com amostras congeladas por país de origem da expetoração

País de colheita	Tipo de amostra	Taxa de positividade MAX		
		MTB	RIF	INH
Mali	Expetoração não processada	43,0% (92/214)	4,2% (3/72)	8,3% (6/72)
	Expetoração processada	41,0% (87/212)	5,6% (4/71)	9,6% (7/73)
México	Expetoração não processada	100% (5/5)	0,0% (0/5)	0,0% (0/5)
	Expetoração processada	75,0% (6/8)	0,0% (0/6)	0,0% (0/6)
República da Moldávia	Expetoração não processada	94,3% (82/87)	28,2% (20/71)	43,9% (36/82)
	Expetoração processada	96,6% (84/87)	33,3% (25/75)	43,0% (34/79)
Rússia	Expetoração não processada	87,5% (14/16)	50,0% (5/10)	36,4% (4/11)
	Expetoração processada	81,3% (13/16)	33,3% (3/9)	40,0% (4/10)
África do Sul	Expetoração não processada	69,2% (72/104)	0,0% (0/65)	1,6% (1/64)
	Expetoração processada	67,3% (70/104)	1,5% (1/68)	1,6% (1/64)
Uganda	Expetoração não processada	51,9% (107/206)	1,1% (1/91)	3,3% (3/91)
	Expetoração processada	53,7% (131/244)	0,0% (0/103)	2,9% (3/104)
Desconhecido	Expetoração não processada	66,7% (2/3)	0,0% (0/2)	0,0% (0/2)
	Expetoração processada	66,7% (2/3)	0,0% (0/2)	0,0% (0/2)
Total	Expetoração não processada	58,9% (374/635)	9,2% (29/316)	15,3% (50/327)
	Expetoração processada	58,3% (393/674)	9,9% (33/334)	14,5% (49/338)

Num segundo estudo clínico do BD MAX MDR-TB (maio de 2017–março de 2018), foram colhidas 1.063 amostras de expetoração prospectivas em conformidade, em países com conhecida alta incidência de casos de TB e MDR-TB. Cada amostra de expetoração fresca foi dividida em duas (2) porções: uma porção para digestão pelo método digestivo de NALC/NaOH⁷ (processada) e uma porção considerada a amostra não processada (sem digestão). O ensaio BD MAX MDR-TB foi executado nas duas porções. A taxa de positividade de MTB foi calculada para as 953 porções de expetoração não processada e as 965 porções de expetoração processada que estavam em conformidade, ao nível da amostra e do ensaio BD MAX MDR-TB, com um resultado reportável (Quadro 3). A taxa de positividade de RIF foi calculada para as 255 porções de expetoração não processada e as 236 porções de expetoração processada que estavam em conformidade, ao nível da amostra e do ensaio BD MAX MDR-TB, com um resultado reportável para RIF. A taxa de positividade de INH foi obtida para as 256 porções de expetoração não processada e as 233 porções de expetoração processada que estavam em conformidade, ao nível da amostra e do BD MAX MDR-TB, com um resultado reportável para INH. Estas amostras foram obtidas de quatro países.

Quadro 3: Positividade BD MAX MDR-TB com amostras frescas por país de origem da expetoração

País de colheita	Tipo de amostra	Taxa de positividade MAX		
		MTBC	RIF	INH
Índia	Expetoração não processada	42,3% (52/123)	4,4% (2/45)	9,3% (4/43)
	Expetoração processada	43,5% (54/124)	2,5% (1/40)	10,0% (4/40)
Peru	Expetoração não processada	49,6% (125/252)	13,1% (16/122)	15,4% (19/123)
	Expetoração processada	49,0% (124/253)	14,5% (17/117)	14,2% (16/113)
África do Sul	Expetoração não processada	10,4% (33/318)	0,0% (0/22)	0,0% (0/23)
	Expetoração processada	12,1% (39/322)	4,5% (1/22)	5,0% (1/20)
Uganda	Expetoração não processada	28,8% (75/260)	3,0% (2/66)	4,5% (3/67)
	Expetoração processada	26,7% (71/266)	3,5% (2/57)	5,0% (3/60)
Total	Expetoração não processada	29,9% (285/953)	7,8% (20/255)	10,2% (26/256)
	Expetoração processada	29,8% (288/965)	8,9% (21/236)	10,3% (24/233)

O valor preditivo positivo (PPV) e valor preditivo negativo (NPV) hipotéticos foram calculados e estão representados nos Quadros 4–6 para MTB, resistência à RIF e resistência à INH, respetivamente. Estes cálculos são baseados na prevalência hipotética e na sensibilidade e especificidade globais obtidas, em comparação com os métodos de referência do estudo.

Quadro 4: Valores preditivos hipotéticos negativos e positivos para *M. tuberculosis* com amostras frescas, por tipo de expetoração

Tipo de amostra MAX	MTBC			PPV		NPV	
	Prevalência	Sensibilidade global	Especificidade global	Estimativa	IC de 95%	Estimativa	IC de 95%
Expetoração não processada	1%	92,6% (275/297) (89,0%, 95,1%)	98,6% (584/592) (97,4%, 99,3%)	40,9%	(26,6%, 60,7%)	99,9%	(99,9%, 100%)
	2,5%			63,7%	(47,9%, 79,7%)	99,8%	(99,7%, 99,9%)
	5%			78,3%	(65,3%, 88,9%)	99,6%	(99,4%, 99,7%)
	10%			88,4%	(79,9%, 94,4%)	99,2%	(98,8%, 99,5%)
	15%			92,4%	(86,3%, 96,4%)	98,7%	(98,1%, 99,2%)
	20%			94,5%	(90,0%, 97,5%)	98,2%	(97,3%, 98,8%)
	25%			95,8%	(92,3%, 98,1%)	97,6%	(96,4%, 98,4%)
	30%			96,7%	(93,9%, 98,5%)	96,9%	(95,5%, 98,0%)
	40%			97,9%	(96,0%, 99,0%)	95,2%	(93,1%, 96,9%)
	50%			98,6%	(97,3%, 99,4%)	93,0%	(90,0%, 95,4%)
Expetoração processada	1%	89,2% (263/295) (85,1%, 92,2%)	96,5% (583/604) (94,7%, 97,7%)	20,6%	(14,8%, 28,9%)	99,9%	(99,8%, 99,9%)
	2,5%			39,7%	(30,6%, 50,8%)	99,7%	(99,6%, 99,8%)
	5%			57,4%	(47,5%, 67,9%)	99,4%	(99,2%, 99,6%)
	10%			74,0%	(65,6%, 81,7%)	98,8%	(98,3%, 99,1%)
	15%			81,9%	(75,2%, 87,7%)	98,1%	(97,4%, 98,6%)
	20%			86,5%	(81,1%, 91,0%)	97,3%	(96,3%, 98,1%)
	25%			89,5%	(85,1%, 93,1%)	96,4%	(95,1%, 97,4%)
	30%			91,7%	(88,0%, 94,5%)	95,4%	(93,8%, 96,7%)
	40%			94,5%	(92,0%, 96,4%)	93,0%	(90,7%, 95,0%)
	50%			96,2%	(94,5%, 97,6%)	89,9%	(86,7%, 92,7%)

Quadro 5: Valores preditivos hipotéticos negativos e positivos para a resistência à rifampicina (RIF) de *M. tuberculosis* com amostras frescas, por tipo de expetoração

RIF				PPV		NPV	
Tipo de amostra MAX	Prevalência	Sensibilidade global	Especificidade global	Estimativa	IC de 95%	Estimativa	IC de 95%
Expetoração não processada	1%	94,1% (16/17) (73,0%, 99,0%)	98,5% (202/205) (95,8%, 99,5%)	39,4%	(18,9%, 73,9%)	99,9%	(99,7%, 100%)
	2,5%			62,3%	(37,2%, 87,8%)	99,8%	(99,3%, 100%)
	5%			77,2%	(54,8%, 93,6%)	99,7%	(98,5%, 100%)
	10%			87,7%	(71,9%, 96,9%)	99,3%	(96,9%, 100%)
	15%			91,9%	(80,3%, 98,0%)	99,0%	(95,2%, 100%)
	20%			94,1%	(85,2%, 98,6%)	98,5%	(93,3%, 100%)
	25%			95,5%	(88,5%, 98,9%)	98,0%	(91,3%, 99,9%)
	30%			96,5%	(90,8%, 99,2%)	97,5%	(89,0%, 99,9%)
	40%			97,7%	(93,9%, 99,5%)	96,2%	(83,9%, 99,9%)
	50%			98,5%	(95,8%, 99,6%)	94,4%	(77,7%, 99,8%)
Expetoração processada	1%	93,8% (15/16) (71,7%, 98,9%)	97,4% (191/196) (94,2%, 98,9%)	27,1%	(14,2%, 51,3%)	99,9%	(99,7%, 100%)
	2,5%			48,5%	(29,5%, 72,8%)	99,8%	(99,2%, 100%)
	5%			65,9%	(46,2%, 84,6%)	99,7%	(98,4%, 100%)
	10%			80,3%	(64,5%, 92,1%)	99,3%	(96,7%, 100%)
	15%			86,6%	(74,2%, 94,8%)	98,9%	(94,9%, 100%)
	20%			90,2%	(80,3%, 96,3%)	98,4%	(92,9%, 100%)
	25%			92,5%	(84,5%, 97,2%)	97,9%	(90,8%, 99,9%)
	30%			94,0%	(87,5%, 97,8%)	97,3%	(88,5%, 99,9%)
	40%			96,1%	(91,6%, 98,6%)	95,9%	(83,1%, 99,9%)
	50%			97,4%	(94,2%, 99,1%)	94,0%	(76,6%, 99,8%)

Quadro 6: Valores preditivos hipotéticos negativos e positivos para a resistência à isoniazida (INH) de *M. tuberculosis* com amostras frescas, por tipo de expetoração

INH				PPV		NPV	
Tipo de amostra MAX	Prevalência	Sensibilidade global	Especificidade global	Estimativa	IC de 95%	Estimativa	IC de 95%
Expetoração não processada	1%	81,5% (22/27) (63,3%, 91,8%)	100% (205/205) (98,2%, 100%)	100%	(33,9%, 100%)	99,8%	(99,6%, 99,9%)
	2,5%			100%	(56,5%, 100%)	99,5%	(99,0%, 99,8%)
	5%			100%	(72,7%, 100%)	99,0%	(98,0%, 99,7%)
	10%			100%	(84,9%, 100%)	98,0%	(95,9%, 99,3%)
	15%			100%	(89,9%, 100%)	96,8%	(93,7%, 98,9%)
	20%			100%	(92,7%, 100%)	95,6%	(91,3%, 98,4%)
	25%			100%	(94,4%, 100%)	94,2%	(88,7%, 97,9%)
	30%			100%	(95,6%, 100%)	92,6%	(86,0%, 97,4%)
	40%			100%	(97,1%, 100%)	89,0%	(79,8%, 96,0%)
	50%			100%	(98,1%, 100%)	84,4%	(72,4%, 94,1%)
Expetoração processada	1%	84,0% (21/25) (65,3%, 93,6%)	100% (188/188) (98,0%, 100%)	100%	(32,5%, 100%)	99,8%	(99,6%, 100%)
	2,5%			100%	(55,0%, 100%)	99,6%	(99,1%, 99,9%)
	5%			100%	(71,5%, 100%)	99,2%	(98,1%, 99,8%)
	10%			100%	(84,1%, 100%)	98,3%	(96,1%, 99,5%)
	15%			100%	(89,4%, 100%)	97,3%	(94,0%, 99,2%)
	20%			100%	(92,3%, 100%)	96,2%	(91,7%, 98,9%)
	25%			100%	(94,1%, 100%)	94,9%	(89,3%, 98,5%)
	30%			100%	(95,3%, 100%)	93,6%	(86,6%, 98,1%)
	40%			100%	(96,9%, 100%)	90,4%	(80,6%, 97,1%)
	50%			100%	(97,9%, 100%)	86,2%	(73,5%, 95,7%)

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Desempenho clínico

As características do desempenho clínico do ensaio BD MAX MDR-TB foram determinadas num estudo investigacional multicêntrico. O estudo utilizou amostras colhidas prospectivamente, congeladas, obtidas de 761 doentes de seis países com conhecida alta incidência de casos de TB e MDR-TB. Os participantes no estudo foram inscritos nos casos em que existia suspeita de tuberculose (TB), o participante tinha pelo menos 18 anos de idade e não tinha recebido terapêutica anti-tuberculose, ou tinha recebido menos de três (3) dias terapêutica nos últimos seis (6) meses. As amostras congeladas foram enviadas para a BD e, em seguida, distribuídas aleatoriamente e enviadas para dois (2) centros, onde cada amostra de expetoração foi dividida em duas (2) porções: uma porção foi digerida pelo método digestivo de NALC/NaOH⁷ (processada) e a outra porção foi considerada a amostra não processada (sem digestão). No total, três (3) centros executaram o método de referência (RM) na expetoração processada, o qual consistiu em microscopia de fluorescência (apenas para fins de estratificação), cultura líquida seguida de teste de sensibilidade ao fármaco (DST) e o teste de amplificação de ácidos nucleicos MTB/RIF Cepheid® Xpert (NAAT). Para MTB e RIF, o RM foi considerado positivo quando a cultura/DST ou o NAAT foram positivos. O RM foi considerado negativo quando ambos os métodos produziram um resultado negativo. Para a INH, o RM foi apenas cultura/DST. Dois (2) outros centros executaram o ensaio BD MAX MDR-TB nas porções processada e não processada das amostras. No total, 761 doentes forneceram uma amostra de expetoração. As amostras foram excluídas do estudo devido a manuseamento e processamento incorretos das amostras, recepção de uma quantidade desadequada de amostra, ausência de resultados BD MAX correspondentes e um volume de expetoração inferior a 1,5 ml. No total, 643 amostras de expetoração não processada e 678 amostras de expetoração processada de 686 doentes estiveram em conformidade ao nível do ensaio BD MAX MDR-TB. Entre estas, 596 amostras de expetoração não processada e 635 amostras de expetoração processada de 645 doentes também se apresentaram em conformidade de acordo com o método de referência e foram incluídas no cálculo das características do desempenho. No total, a análise das características do desempenho incluiu 384 indivíduos do sexo masculino, 256 do sexo feminino e 5 para os quais o sexo não foi registado. As amostras que produziram um resultado ausente ou sem conformidade pelo RM, ou um resultado ausente no BD MAX, foram removidas dos cálculos dos dados clínicos. O teste foi repetido para todos os resultados BD MAX inicialmente não reportáveis. O Quadro 7 resume a sensibilidade e especificidade por tipo de amostra e estado de MTB no esfregaço. Os Quadros 8 e 9 resumem a sensibilidade e especificidade por tipo de amostra para a resistência à RIF e INH.

Quadro 7: Sensibilidade e especificidade de MTB em comparação com o RM compósito, amostras congeladas (cultura + NAAT)

	Expetoração não processada	Expetoração processada
Sensibilidade	98,3%	99,2%
Esfregaço positivo	(229/233)	(245/247)
	(95,7%, 99,3%)	(97,1%, 99,8%)
Sensibilidade	88,5%	90,3%
Esfregaço negativo	(131/148)	(139/154)
	(82,4%, 92,7%)	(84,6%, 94,0%)
Sensibilidade global	94,5%	95,8%
	(360/381)	(384/401)
	(91,7%, 96,4%)	(93,3%, 97,3%)
Especificidade global	94,9%	97,0%
	(204/215)	(227/234)
	(91,1%, 97,1%)	(94,0%, 98,5%)

Entre os 360 resultados positivos verdadeiros para MTB com expetoração não processada, 106 apresentaram um método de referência RIF não avaliável. Entre as 254 amostras positivas verdadeiras para MTB e com método de referência de RIF avaliável, 15 e 13 amostras apresentaram inicialmente um resultado MTB positivo baixo e Resistência à RIF não reportável, respetivamente. Após uma repetição válida, 7 e 4 amostras mantiveram um resultado MTB positivo baixo e Resistência à RIF não reportável, respetivamente.

Entre os 384 positivos verdadeiros para MTB com expetoração processada, 118 apresentaram um método de referência RIF não avaliável. Entre as 266 amostras positivas verdadeiras para MTB e com método de referência de RIF avaliável, 24 e 11 amostras apresentaram inicialmente um resultado MTB positivo baixo e Resistência à RIF não reportável, respetivamente. Após uma repetição válida, 11 e 2 amostras mantiveram um resultado MTB positivo baixo e Resistência à RIF não reportável, respetivamente.

Quadro 8: Desempenho global de RIF em comparação com o RM compósito, amostras congeladas (cultura/DST + NAAT)

	Expetoração não processada	Expetoração processada
Sensibilidade global	100% (26/26) (87,1%, 100%)	100% (30/30) (88,6%, 100%)
Especificidade global	100% (206/206) (98,2%, 100%)	99,1% (214/216) (96,7%, 99,7%)

Entre os 360 resultados positivos verdadeiros para MTB com expectoração não processada, 107 apresentaram um método de referência INH não avaliável. Entre as 253 amostras positivas verdadeiras para MTB e com método de referência de INH avaliável, 14 e 2 amostras apresentaram inicialmente um resultado MTB positivo baixo e Resistência à INH não reportável, respetivamente. Após uma repetição válida, 7 e 0 amostras mantiveram um resultado MTB positivo baixo e Resistência à INH não reportável, respetivamente.

Entre os 384 positivos verdadeiros para MTB com expectoração processada, 115 apresentaram um método de referência INH não avaliável. Entre as 269 amostras positivas verdadeiras para MTB e com método de referência de INH avaliável, 29 e 3 amostras apresentaram inicialmente um resultado MTB positivo baixo e Resistência à INH não reportável, respetivamente. Após uma repetição válida, 15 e 2 amostras mantiveram um resultado MTB positivo baixo e Resistência à INH não reportável, respetivamente.

Quadro 9: Desempenho global de INH em comparação com o RM, amostras congeladas (cultura/DST)

	Expetoração não processada	Expetoração processada
Sensibilidade global	100% (43/43) (91,8%, 100%)	100% (41/41) (91,4%, 100%)
Especificidade global	100% (199/199) (98,1%, 100%)	100% (209/209) (98,2%, 100%)

No total, 643 amostras de expectoração não processada e 678 amostras de expectoração processada foram baseadas em amostras de expectoração em conformidade e nos resultados BD MAX MDR-TB. O teste foi repetido para todos os resultados BD MAX MDR-TB inicialmente não reportáveis. O Quadro 10 resume os resultados MTB não resolvidos, Indeterminados e Incompletos, por tipo de amostra.

Quadro 10: Taxas de resultados MTB UNR, IND, INC e não reportáveis em amostras congeladas, por tipo de expectoração

Tipo de amostra	MTB não resolvido (UNR)		Indeterminado (IND)		Incompleto (INC)		Total não reportável (UNR+IND+INC)	
	Inicial (IC de 95%)	Rep. válida (IC de 95%)	Inicial (IC de 95%)	Rep. válida (IC de 95%)	Inicial (IC de 95%)	Rep. válida (IC de 95%)	Inicial (IC de 95%)	Rep. válida (IC de 95%)
Expetoração não processada	2,5% (16/643) (1,5%, 4,0%)	0,2% (1/636) (0,0%, 0,9%)	3,1% (20/643) (2,0%, 4,8%)	0,0% (0/636) (0,0%, 0,6%)	0,0% (0/643) (0,0%, 0,6%)	0,0% (0/636) (0,0%, 0,6%)	5,6% (36/643) (4,1%, 7,7%)	0,2% (1/636) (0,0%, 0,9%)
Expetoração processada	0,7% (5/678) (0,3%, 1,7%)	0,0% (0/674) (0,0%, 0,6%)	1,2% (8/678) (0,6%, 2,3%)	0,0% (0/674) (0,0%, 0,6%)	0,0% (0/678) (0,0%, 0,6%)	0,0% (0/674) (0,0%, 0,6%)	1,9% (13/678) (1,1%, 3,3%)	0,0% (0/674) (0,0%, 0,6%)

As características do desempenho clínico do ensaio BD MAX MDR-TB foram determinadas num segundo estudo investigacional multicêntrico. O estudo utilizou amostras frescas, colhidas prospetivamente em quatro países com conhecida alta incidência de casos de TB e MDR-TB. Os participantes no estudo foram inscritos no grupo de deteção de casos quando existia suspeita de tuberculose (TB), o participante tinha pelo menos 18 anos de idade e não tinha recebido terapêutica anti-tuberculose, ou tinha recebido menos de três (3) dias de terapêutica nos últimos seis (6) meses. Os participantes do estudo foram inscritos no grupo de TB farmacorresistente quando existia suspeita de tuberculose (TB), o participante tinha pelo menos 18 anos de idade e cumpria pelo menos um dos seguintes critérios: i) TB pulmonar conhecida com suspeita de falha do tratamento, ii) antecedentes de TB farmacorresistente e de tratamento anti-TB durante pelo menos 3 meses, iii) TB pulmonar confirmada pela microbiologia com resistência à RIF documentada e tratamento anti-TB anterior com duração máxima de 31 dias.

As características do desempenho para MTB foram determinadas apenas com base na população do grupo de detecção de casos. Para a determinação das características do desempenho relativamente à resistência à RIF e INH, as duas populações foram agrupadas. Cada amostra de expetoração fresca foi dividida em duas (2) porções: uma porção foi digerida pelo método digestivo de NALC/NaOH⁷ (processada) e a outra porção foi considerada a amostra não processada (sem digestão). Cada um dos quatro (4) centros executaram o ensaio BD MAX MDR-TB nas porções processadas e não processadas das amostras e executaram o método de referência (RM) na expetoração processada, o qual consistiu em cultura líquida seguida de teste de sensibilidade ao fármaco (DST) e o teste de amplificação de ácidos nucleicos MTB/RIF Cepheid Xpert (NAAT). A BD realizou a sequenciação bidirecional de uma região do gene *rpoB* para confirmar os resultados de detecção de resistência à RIF pelo NAAT. Para MTB, o RM foi considerado positivo quando a cultura ou o NAAT foram positivos. O RM foi considerado negativo quando ambos os métodos produziram um resultado negativo. Para a resistência à RIF, o RM foi considerado positivo quando o DST ou o NAAT seguido de sequenciação bidirecional foram positivos. O RM foi considerado negativo quando ambos os métodos produziram um resultado negativo. Para a INH, o RM foi apenas cultura/DST. As colorações de Auramina O e Ziehl-Neelsen foram aplicadas nas porções processadas e não processadas.

No total, 1.091 e 11 indivíduos foram inscritos no estudo no grupo de detecção de casos e no grupo de TB farmacorresistente, respetivamente. Entre estes, 1.076 e 10 indivíduos apresentaram-se em conformidade no grupo de detecção de casos e no grupo de TB farmacorresistente, respetivamente, de acordo com os critérios do protocolo. No total, 1.053 e 10 doentes no grupo de detecção de casos e no grupo de TB farmacorresistente, respetivamente, produziram uma amostra de expetoração em conformidade. As amostras foram excluídas do estudo em caso de manuseamento e processamento incorreto das amostras, receção de uma quantidade de amostra não adequada, ausência de resultados BD MAX correspondentes e amostras demasiado antigas para o teste. No total, 1.033 amostras de expetoração não processada e 1.034 amostras de expetoração processada estavam em conformidade ao nível do BD MAX MDR-TB. Entre estas, 889 amostras de expetoração não processada e 899 amostras de expetoração processada de 911 doentes foram incluídas no cálculo das características do desempenho. Quatrocentos e oitenta e nove (489) doentes do sexo masculino e quatrocentas e vinte e duas (422) doentes do sexo feminino foram incluídos na análise das características do desempenho. As amostras que produziram um resultado ausente ou sem conformidade pelo RM, ou um resultado ausente no BD MAX, foram removidas dos cálculos dos dados clínicos. O teste foi repetido para todos os resultados BD MAX inicialmente não reportáveis.

O Quadro 11 resume a prevalência obtida para cada alvo, por país.

Quadro 11: Prevalência de MTB, resistência à RIF e resistência à INH em amostras frescas, por país

País de colheita	Prevalência pelo RM					
	MTB	RIF	INH	Apenas resistente à RIF (sensível à INH) ^a	Apenas resistente à INH (sensível à RIF) ^a	Resistente à RIF e resistente à INH ^a
Índia	43,6% (58/133)	4,9% (2/41)	14,0% (7/50)	0,0% (0/41)	9,8% (4/41)	4,9% (2/41)
Peru	56,6% (151/267)	11,5% (15/130)	15,6% (22/141)	3,1% (4/129)	7,8% (10/129)	7,8% (10/129)
África do Sul	10,6% (34/320)	3,8% (1/26)	3,4% (1/29)	0,0% (0/26)	0,0% (0/26)	3,8% (1/26)
Uganda	33,7% (88/261)	2,9% (2/68)	3,9% (3/77)	2,9% (2/68)	4,4% (3/68)	0,0% (0/68)
Total	33,7% (331/981)	7,5% (20/265)	11,1% (33/297)	2,3% (6/264)	6,4% (17/264)	4,9% (13/264)

^a O denominador são todas as amostras com um resultado POS/NEG reportável para o RM compósito para a RIF (cultura/DST + NAAT e sequenciação bidirecional) e para o RM para a INH (cultura/DST).

Os Quadros 12 e 13 resumem o desempenho para MTB, estratificado de acordo com os métodos de coloração de Ziehl-Neelsen e Auramina O quando aplicados na expetoração processada e não processada, respetivamente.

Quadro 12: Sensibilidade para MTB estratificada pelos métodos de coloração de Auramina O e Ziehl-Neelsen quando aplicados na expetoração não processada

Métodos de coloração aplicados na expetoração não processada	Método de Auramina O ^a		Método de Ziehl-Neelsen ^b	
	Ensaio BD MAX MDR-TB executado na		Ensaio BD MAX MDR-TB executado na	
	Expetoração não processada	Expetoração processada	Expetoração não processada	Expetoração processada
	Percentagem (IC de 95%)	Percentagem (IC de 95%)	Percentagem (IC de 95%)	Percentagem (IC de 95%)
Sensibilidade, esfregaço pos.	100% (178/178) (97,9%, 100%)	100% (176/176) (97,9%, 100%)	100% (149/149) (97,5%, 100%)	100% (147/147) (97,5%, 100%)
Sensibilidade, esfregaço neg.	81,5% (97/119) (73,6%, 87,5%)	73,1% (87/119) (64,5%, 80,3%)	85,1% (126/148) (78,5%, 90,0%)	78,4% (116/148) (71,1%, 84,2%)

^a Não estiveram disponíveis resultados de esfregaço para 3 amostras com um método de referência negativo.

^b Não estiveram disponíveis resultados de esfregaço para 2 amostras com um método de referência negativo.

Quadro 13: Sensibilidade para MTB estratificada pelos métodos de coloração de Auramina O e Ziehl-Neelsen quando aplicados na expetoração processada

Métodos de coloração aplicados na expetoração processada	Método de Auramina O ^a		Método de Ziehl-Neelsen ^b	
	Ensaio BD MAX MDR-TB executado na		Ensaio BD MAX MDR-TB executado na	
	Expetoração não processada	Expetoração processada	Expetoração não processada	Expetoração processada
	Porcentagem (IC de 95%)	Porcentagem (IC de 95%)	Porcentagem (IC de 95%)	Porcentagem (IC de 95%)
Sensibilidade, esfregaço pos.	99,1% (214/216) (96,7%, 99,7%)	99,5% (213/214) (97,4%, 99,9%)	99,5% (193/194) (97,1%, 99,9%)	99,5% (191/192) (97,1%, 99,9%)
Sensibilidade, esfregaço neg.	75,3% (61/81) (64,9%, 83,4%)	61,7% (50/81) (50,8%, 71,6%)	79,6% (82/103) (70,8%, 86,3%)	69,9% (72/103) (60,5%, 77,9%)

^a Não estiveram disponíveis resultados de esfregaço para 2 amostras com um método de referência negativo.

^b Não estiveram disponíveis resultados de esfregaço para 3 amostras com um método de referência negativo.

O Quadro 14 resume a sensibilidade e especificidade por tipo de amostra e centros de teste de colheita para MTB. Os Quadros 15 e 16 resumem a sensibilidade e especificidade por tipo de amostra para a resistência à RIF e INH.

Quadro 14: Sensibilidade e especificidade de MTB em comparação com o RM composto, amostras frescas (cultura + NAAT)

Local	Expetoração não processada		Expetoração processada	
	Sensibilidade	Especificidade	Sensibilidade	Especificidade
	Porcentagem (IC de 95%)	Porcentagem (IC de 95%)	Porcentagem (IC de 95%)	Porcentagem (IC de 95%)
África do Sul	91,2% (31/34) (77,0%, 97,0%)	99,3% (265/267) (97,3%, 99,8%)	84,8% (28/33) (69,1%, 93,3%)	95,9% (260/271) (92,9%, 97,7%)
Uganda	92,2% (71/77) (84,0%, 96,4%)	98,7% (148/150) (95,3%, 99,6%)	87,0% (67/77) (77,7%, 92,8%)	98,7% (153/155) (95,4%, 99,6%)
Índia	98,0% (49/50) (89,5%, 99,6%)	95,6% (65/68) (87,8%, 98,5%)	92,0% (46/50) (81,2%, 96,8%)	91,3% (63/69) (82,3%, 96,0%)
Peru	91,2% (124/136) (85,2%, 94,9%)	99,1% (106/107) (94,9%, 99,8%)	90,4% (122/135) (84,2%, 94,3%)	98,2% (107/109) (93,6%, 99,5%)
Global	92,6% (275/297) (89,0%, 95,1%)	98,6% (584/592) (97,4%, 99,3%)	89,2% (263/295) (85,1%, 92,2%)	96,5% (583/604) (94,7%, 97,7%)

Entre os 275 + 3 resultados positivos verdadeiros para MTB com expetoração não processada do grupo de detecção de casos e do grupo de resistência, 44 apresentaram um método de referência composto de RIF não avaliável. Entre as 234 amostras positivas verdadeiras para MTB e com método de referência de RIF avaliável, 16 e 3 amostras apresentaram inicialmente um resultado MTB positivo baixo e Resistência à RIF não reportável, respetivamente. Após uma repetição válida, 9 e 2 amostras mantiveram um resultado MTB positivo baixo e Resistência à RIF não reportável, respetivamente.

Entre os 263 + 3 resultados positivos verdadeiros para MTB com expetoração processada do grupo de detecção de casos e do grupo de resistência, 36 apresentaram um método de referência composto de RIF não avaliável. Entre as 230 amostras positivas verdadeiras para MTB e com método de referência de RIF avaliável, 28 e 4 amostras apresentaram inicialmente um resultado MTB positivo baixo e Resistência à RIF não reportável, respetivamente. Após uma repetição válida, 13 e 1 amostras mantiveram um resultado MTB positivo baixo e Resistência à RIF não reportável, respetivamente.

Quadro 15: Desempenho global de RIF em comparação com o RM compósito, amostras frescas (cultura/DST + NAAT e sequenciação bidirecional)

	Expetoração não processada	Expetoração processada
Sensibilidade global	94,1% (16/17) ^a (73%, 99%)	93,8% (15/16) ^b (71,7%, 98,9%)
Especificidade global	98,5% (202/205) (95,8%, 99,5%)	97,4% (191/196) (94,2%, 98,9%)

^a Entre as 17 amostras resistentes à RIF, 7 mostraram-se não avaliáveis ou sensíveis à RIF no DST, mas o teste MTB/RIF Xpert detetou resistência à RIF, a qual foi confirmada pela sequenciação bidirecional. As resistências detetadas foram L511P, D516Y, D516F, H526N e L533P.

^b Entre as 16 amostras resistentes à RIF, 6 mostraram-se sensíveis à RIF no DST, mas o teste MTB/RIF Xpert detetou resistência à RIF, a qual foi confirmada pela sequenciação bidirecional. As resistências detetadas foram L511P, D516Y, D516F e L533P.

Entre os 275 + 3 resultados positivos verdadeiros para MTBC com expetoração não processada do grupo de deteção de casos e do grupo de resistência, 26 apresentaram um método de referência de INH não avaliável. Entre as 252 amostras positivas verdadeiras para MTBC e com método de referência de INH avaliável, 22 e 8 amostras apresentaram inicialmente um resultado MTBC positivo baixo e Resistência à INH não reportável, respetivamente. Após uma repetição válida, 17 e 2 amostras mantiveram um resultado MTBC positivo baixo e Resistência à INH não reportável, respetivamente.

Entre os 263 + 3 resultados positivos verdadeiros para MTB com expetoração processada do grupo de deteção de casos e do grupo de resistência, 23 apresentaram um método de referência de INH não avaliável. Entre as 243 amostras positivas verdadeiras para MTB e com método de referência de INH avaliável, 35 e 12 amostras apresentaram inicialmente um resultado MTB positivo baixo e Resistência à INH não reportável, respetivamente. Após uma repetição válida, 19 e 10 amostras mantiveram um resultado MTB positivo baixo e Resistência à INH não reportável, respetivamente.

Quadro 16: Desempenho global de INH em comparação com o RM, amostras frescas (cultura/DST)

	Expetoração não processada	Expetoração processada
Sensibilidade global	81,5% (22/27) (63,3%, 91,8%)	84% (21/25) (65,3%, 93,6%)
Especificidade global	100% (205/205) (98,2%, 100%)	100% (188/188) (98%, 100%)

No total, 1.033 amostras de expetoração não processada e 1.034 amostras de expetoração processada foram baseadas em amostras de expetoração em conformidade e nos resultados BD MAX MDR-TB. O teste foi repetido para todos os resultados BD MAX MDR-TB inicialmente não reportáveis. O Quadro 17 resume os resultados MTB não resolvidos, Indeterminados e Incompletos, por tipo de amostra.

Quadro 17: Taxas de resultados MTB UNR, IND, INC e total de não reportáveis em amostras frescas, por tipo de expetoração

Tipo de amostra	MTB não resolvido (UNR)		Indeterminado (IND)		Incompleto (INC)		Total não reportável (UNR+IND+INC)	
	Inicial (IC de 95%)	Rep. válida (IC de 95%)	Inicial (IC de 95%)	Rep. válida (IC de 95%)	Inicial (IC de 95%)	Rep. válida (IC de 95%)	Inicial (IC de 95%)	Rep. válida (IC de 95%)
Expetoração não processada	3,8% (39/1.033)	1,0% (10/1.020)	2,8% (29/1.033)	0,6% (6/1.020)	0,6% (6/1.033)	0,6% (6/1.020)	7,2% (74/1.033)	2,2% (22/1.020)
	(2,8%, 5,1%)	(0,5%, 1,8%)	(2,0%, 4,0%)	(0,3%, 1,3%)	(0,3%, 1,3%)	(0,3%, 1,3%)	(5,7%, 8,9%)	(1,4%, 3,2%)
	2,7% (28/1.034)	0,3% (3/1.022)	1,3% (13/1.034)	0,1% (1/1.022)	0,7% (7/1.034)	0,4% (4/1.022)	4,6% (48/1.034)	0,8% (8/1.022)
Expetoração processada	(1,9%, 3,9%)	(0,1%, 0,9%)	(0,7%, 2,1%)	(0,0%, 0,6%)	(0,3%, 1,4%)	(0,2%, 1,0%)	(3,5%, 6,1%)	(0,4%, 1,5%)

Inclusividade analítica

Foram incluídas diversas estirpes alvo para o ensaio BD MAX TB-MDR neste estudo. Os critérios de seleção das estirpes incluíram a sensibilidade à rifampicina e isoniazida e isolados resistentes de diversas localizações geográficas. Este estudo incluiu uma combinação de microrganismos quantificados, lisados térmicos de células (adquiridos da coleção pública do Belgian Coordinated Collections of Microorganisms/Institute of Tropical Medicine) e ADN genómico. Quarenta e quatro (44) estirpes bem caracterizadas de *M. tuberculosis* foram testadas relativamente à deteção de RIF/INH com o ensaio BD MAX MDR-TB (Quadros 18 e 19). As estirpes testadas quanto a inclusividade nas espécies do complexo *M. tuberculosis* foram: *M. africanum*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. cannetti*, *M. microti*, *M. pinnipedii* (Quadro 20).

Quadro 18: Teste da resistência com o ensaio BD MAX MDR-TB em lisados térmicos de células

ID da estirpe	Origem	Resistência à rifampicina ^a		Resistência à isoniazida ^b			Resultado BD MAX MDR-TB
		R/S	Codão RRDR	R/S	Codão <i>katG</i>	Nucleótido <i>inhApr</i>	
041679	Nepal	R	Ser512Gly Ser531Trp	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
971524	Bangladesh	R	Met515Ile Asp516Tyr	S	WT	WT	Resistência à RIF detetada
980166	Bangladesh	R	Ser509Arg His526Arg	S	WT	WT	Resistência à RIF detetada
970472	Bangladesh	S	WT	R	Ser315Ile	WT	Resistência à INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
041204	Coreia do Sul	R	Asp516Val	R	WT	C-15T	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> NÃO detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
041207	Coreia do Sul	R	Ser531Leu	R	WT	G-9A	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> NÃO detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
041226	Coreia do Sul	R	Leu511 Pro	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada <i>inhApr</i> NÃO detetada
041203	Coreia do Sul	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Resistência à INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada <i>inhApr</i> NÃO detetada
042763	Filipinas	R	Ser531Leu	R	WT	C-15T	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> NÃO detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
000440	Cazaquistão	R	Ser531Trp	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada <i>inhApr</i> NÃO detetada
020115	Geórgia	S	WT	R	WT	C-15T	Resistência à INH detetada Mut. <i>katG</i> NÃO detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
042928	Espanha	S	WT	R	Ser315Asn	WT	Resistência à INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
041668	Alemanha	S	WT	R	Ser315Thr	C-15T	Resistência à INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
992092	França	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
041655	Bolívia	R	Ser531Leu	R	Ser315Asn	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
041290	Brasil	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Resistência à INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
041281	Brasil	R	Asp516Val	S	Ser315Ser	WT	Resistência à RIF e INH detetada ^c Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
041289	Brasil	R	His526Arg	R	Ser315Thr	C-15T	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
042611	Peru	R	His526Arg	R	Ser315Asn	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada

ID da estirpe	Origem	Resistência à rifampicina ^a		Resistência à isoniazida ^b			Resultado BD MAX MDR-TB
		R/S	Codão RRDR	R/S	Codão <i>katG</i>	Nucleótido <i>inhApr</i>	
040850	África do Sul	R	Leu533Pro	R	Ser315Thr	T-8G	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
041086	Ruanda	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	C-15T	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
991451	Congo	R	Asp516Tyr	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
021555	Burundi	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Resistência à INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada

^a R= resistente à rifampicina, S= sensível à rifampicina, WT= tipo selvagem, sem alteração do nucleótido ou codão

^b R= resistente à isoniazida, S= sensível à isoniazida, WT= tipo selvagem, sem alteração do nucleótido ou codão

^c Fenotipicamente sensível à INH, mas resistente à INH de acordo com a sequência de ADN e o ensaio BD MAX MDR-TB

Quadro 19: Teste da resistência com o ensaio BD MAX MDR-TB em isolados do repositório de Mycobacterium da BD

ID da estirpe	Resistência à rifampicina		Resistência à isoniazida			Resultado BD MAX MDR-TB
	R/S	Codão RRDR	R/S	Codão <i>katG</i>	Nucleótido <i>inhApr</i>	
TB006	R	Gln513Lys	R	WT	C-15T	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> NÃO detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
TB007	R	Gln513Lys	R	WT	C-15T	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> NÃO detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
TB009	R	Gln513Lys	S	WT	WT	Resistência à RIF detetada
TB010	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF ^c e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
TB012 ^a	R	His526Tyr	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
TB022	R	His526Tyr	S	WT	WT	Resistência à RIF detetada
TB023	R	Asp516Tyr	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
TB028	R	His526Tyr	R	Ser315Thr	C-15T	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
TB037	R	Asp516Val	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
TB041	R	His526Asp	S	WT	WT	Resistência à RIF detetada
TB047	R	codão de deleção 519 (AAC)	S	WT	WT	Resistência à RIF detetada
TB049	R	Asp516Val	S	WT	WT	Resistência à RIF detetada, resistência à INH não reportável ^b
TB053	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
TB058	R	Asp516Val	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada

ID da estirpe	Resistência à rifampicina		Resistência à isoniazida			Resultado BD MAX MDR-TB
	R/S	Codão RRDR	R/S	Codão <i>katG</i>	Nucleótido <i>inhApr</i>	
TB059	R	His526Asp	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
TB062	R	His526Arg	S	WT	WT	Resistência à RIF detetada
TB063	R	Gln513Glu	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF e INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
TB094	R	Leu511Pro Ser512Thr	S	WT	WT	Resistência à RIF detetada
TB112	R	His526Leu	R	Ser315Thr	WT	Resistência à RIF detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada
TB121	S	WT	R	Ser315Asn	C-15T	Resistência à INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> detetada
TB123	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Resistência à INH detetada Mut. <i>katG</i> detetada Mut. <i>inhApr</i> NÃO detetada

^a ADN genómico

^b Fenotipicamente sensível à INH, mas não reportável quanto à INH de acordo com a sequência de ADN e o ensaio BD MAX MDR-TB

^c 20% das réplicas de teste foram não reportáveis quanto à RIF para o isolado TB010 na concentração testada. A mutação Ser531Leu foi detetada com êxito no isolado TB053 e, consequentemente, o isolado TB010 não foi testado a concentrações superiores.

Quadro 20: Inclusividade *M. tuberculosis*

Microrganismo do complexo MTB	ID da estirpe
<i>Mycobacterium africanum</i>	ATCC® 25420
<i>Mycobacterium bovis</i>	ATCC TMC 407
<i>Mycobacterium canettii</i>	BCCM/ITM C02321
<i>Mycobacterium caprae</i> ^b	ATCC BAA-824D-2
<i>Mycobacterium microti</i>	ATCC 35782
<i>Mycobacterium pinnipedii</i> ^a	BCCM/ITM 2015-00021

^a Lisado térmico de células

^b ADN genómico

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (limite de deteção ou LdD) do ensaio BD MAX MDR-TB foi determinada da seguinte forma: Isolados de *M. tuberculosis* e BCG (Bacillus Calmette-Guérin) *M. bovis* foram preparados e quantificados antes da inclusão neste estudo. Os microrganismos foram transferidos para um tubo de amostra que já continha expetoração tratada com STR ou um pellet de expetoração pré-determinados como negativos para todos os alvos detetados pelo ensaio BD MAX MDR-TB. O LdD putativo foi avaliado para cada microrganismo testado com um mínimo de 36 réplicas por tipo de amostra (expetoração ou pellet de expetoração), utilizando 3 lotes de produção diferentes do ensaio BD MAX MDR-TB. O LdD para um microrganismo específico foi confirmado através do teste de, pelo menos, 20 réplicas adicionais na concentração LdD determinada. A sensibilidade analítica (LdD), definida como a concentração mais baixa à qual pelo menos 95% de todas as réplicas devem produzir um resultado de teste positivo (consulte o Quadro 21).

Quadro 21: Limite de deteção pelo ensaio BD MAX MDR-TB

Microrganismo (estirpe)	LdD assumido	Expetoração (UFC/ml)	Pellet de expetoração (UFC/ml)
<i>M. bovis</i> (BCG)	MTBC	0,5	20
	Resistência	3,75	
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	MTBC	0,25	
	Resistência	6,0	

Especificidade analítica (reatividade cruzada e exclusividade)

O ensaio BD MAX MDR-TB foi realizado em amostras com espécies relacionadas filogeneticamente e outros microrganismos (bactérias, vírus e leveduras) provavelmente encontrados em amostras de expetoração. As células bacterianas e as leveduras foram testadas no tubo de tampão para amostra a $\geq 1 \times 10^6$ células/ml ou UFC/ml e *Chlamydia* a $>1 \times 10^6$ CE/ml, em expetoração humana tratada com STR. As espécies de vírus, bactérias ou leveduras de aquisição difícil foram submetidas a análise *in silico* com cada alvo do ensaio MDR-TB. Globalmente, foram testados 114 microrganismos, indicados no Quadro 22. Os microrganismos submetidos a análise *in silico* estão indicados no Quadro 23. Todas as estirpes bacterianas e leveduras testadas produziram resultados negativos no ensaio BD MAX MDR-TB.

Quadro 22: Resultados da especificidade do ensaio BD MAX MDR-TB (bactérias, leveduras e vírus)

Organismo		
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Escherichia coli</i> produtora de CTX-M-15 ESBL	<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Fuseobacterium nucleatum</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Mycobacterium triviale</i>
<i>Bordetella parapertussii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Mycobacterium ulcerans</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Neisseria mucosa</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella micdadei</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Neisseria lactamica</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Neisseria sicca</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> Serovar H	<i>Mycobacterium asiaticum</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Mycobacterium fortuitum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Mycobacterium gastri</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>	<i>Rhodococcus equi</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Mycobacterium genavense</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Mycobacterium marmoeense</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus equinus</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus vestibularis</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Streptococcus criceti</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
<i>Streptococcus constellatus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>	
<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>	

Quadro 23: Análise do ensaio BD MAX MDR-TB *in silico*

Organismo	
Adenovírus	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Vírus da imunodeficiência humana	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Vírus influenza humano (tipo A)	<i>Mycobacterium abscessus</i>
Vírus influenza humano (tipo B)	<i>Mycobacterium flavescens</i>
Metapneumovírus humano	<i>Mycobacterium kumamotoense</i>
Vírus parainfluenza humano (Tipo 1)	<i>Mycobacterium leprae</i>
Vírus parainfluenza humano (Tipo 2)	<i>Mycobacterium obuense</i> ^a
Vírus parainfluenza humano (Tipo 3)	<i>M. shimoidei</i> ^a
Vírus parainfluenza humano (Tipo 4)	<i>Nocardia farcinica</i>
Vírus da parotidite	<i>Nocardia brasiliensis</i>
Vírus Respiratório Sincicial	<i>Nocardia otitidiscavium</i>
Rhinovírus	<i>Penicillium</i> spp.
Vírus da rubéola	<i>Rhizopus</i> spp.
Vírus da rubéola	<i>Scedosporium</i> spp.
Vírus Varicella Zoster	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Streptomyces anulatus</i>
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	<i>Tsukamurella</i> spp.
<i>Histoplasma capsulatum</i>	

^a Os iniciadores necessários para a amplificação do ADN alvo de *M. obuense* e *M. shimoidei* contêm disparidades em vários pares de bases, reduzindo a eficiência da amplificação destes alvos.

Substâncias interferentes

Procedeu-se à avaliação de trinta e quatro (34) substâncias biológicas e químicas, que podem estar ocasionalmente presentes na expetoração humana, relativamente à interferência potencial com o ensaio BD MAX MDR-TB. As substâncias foram testadas com as concentrações descritas no Quadro 24 abaixo, tanto na presença como ausência de BCG *M. bovis* a 2x LdD para MTBC. Entre as 34 substâncias testadas, apenas uma (mucina a 5%) demonstrou um efeito inibidor no ensaio. Ao diluir a mucina para 1,5%, a inibição deixou de ser observada. Não foi observada qualquer outra interferência reportável com as restantes substâncias testadas (consulte o Quadro 24).

Quadro 24: Substâncias endógenas e exógenas testadas com o ensaio BD MAX MDR-TB

Substância	Resultado	Substância	Resultado
Lidocaína (12 µg/ml)	NI	Fenilefrina (50% v/v)	NI
Mupirocina (5% p/v)	NI	Oximetazolina (20% v/v)	NI
Estreptomicina (25 µg/ml)	NI	Spray nasal de cloreto de sódio (100%)	NI
Zanamivir (10 mg/ml)	NI	NaCl (5% p/v)	NI
Sangue humano (40% v/v)	NI	Benzocaína (5% p/v)	NI
Ácido gástrico (100%)	NI	Guaifenesina (5 mg/ml)	NI
ADN humano (1,0 E+6 células/ml)	NI	Cloreto de cetilpiridínio (0,5%)	NI
Glóbulos brancos humanos (fração leucoplaquetária 100%)	NI	Nicotina (4 µg/ml)	NI
Mucina (5%)	I ^a	Tobramicina (24 µg/ml)	NI
Listerina (20% v/v)	NI	Amoxicilina (75,2 µg/ml)	NI
Epinefrina (1 mg/ml)	NI	Levofloxacina (5 mg/ml)	NI
Óleo de melaleuca (1% v/v)	NI	Pentamidina (300 ng/ml)	NI
Hidraste (100%)	NI	Isoniazida (50 µg/ml)	NI
Sulfato de albuterol (100 µg/ml)	NI	Rifampicina (120 µg/ml)	NI
Budesonida (12,8 µg/ml)	NI	Pirazinamida (500 µg/ml)	NI
Fluticasona (5 µg/ml)	NI	Etambutol (60 µg/ml)	NI
Zicam (1 zaragatoa/amostra de expetoração de 1,67 ml)	NI	Estreptomicina (25 µg/ml)	NI

NI: Nenhuma interferência reportável com o ensaio BD MAX MDR-TB.

I: Interferência notificável com o ensaio BD MAX MDR-TB.

^a Concentração máxima de 1,5% p/v nos casos em que não foi observada interferência.

Infeção mista/Interferência por concorrência

O estudo sobre a infeção mista/interferência por concorrência foi concebido para avaliar a capacidade do ensaio BD MAX MDR-TB de detetar resultados positivos baixos na presença de microrganismos não-*Mycobacterium tuberculosis* (NTM) que podem estar presentes na expetoração humana. Foram testados quatro (4) microrganismos a concentrações elevadas (1×10^6 células/ml de expetoração), misturados com BCG *M. bovis* a 2x LdD para MTBC. Os microrganismos testados foram *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii* e *M. malmoense*. O MTBC foi detetado com êxito pelo ensaio BD MAX MDR-TB quando combinado com as preparações de infeção mista simulada com alvos de concentração alta.

Precisão

Procedeu-se à avaliação da precisão entre laboratórios para o ensaio BD MAX MDR-TB em um (1) centro. Os testes foram realizados ao longo de 12 dias, com 2 execuções por dia (cada uma por 2 operadores), obtendo-se 24 execuções no total. Cada painel conteve uma estirpe selvagem de *M. tuberculosis* (sensível à RIF e INH) e foi preparado numa matriz de expetoração não processada. As seguintes concentrações foram utilizadas como níveis de introdução para o microrganismo alvo contidos em cada membro do painel:

- Resistência positiva moderada (PM) ≥ 2 e ≤ 3 x LdD
- MTB positivo moderado (PM): ≥ 2 e ≤ 3 x LdD
- Resistência positiva baixa (PB): ≥ 1 e < 2 x LdD
- MTB positivo baixo (PB): ≥ 1 e < 2 x LdD
- Negativo verdadeiro (NV): Amostra negativa (sem alvo)

Os resultados do estudo de precisão para as amostras NV, Resistência PM, MTB PM e Resistência PM demonstraram uma concordância de 100% (Quadro 25). Os resultados do estudo de precisão para as amostras Resistência PB demonstraram uma concordância de 98,6%. Todos os resultados iniciais não reportáveis, com exceção de um, foram repetidos em conformidade com as instruções do folheto informativo. As amostras que produziram um resultado inicial <MTB Low POS> (MTB positivo baixo) produziram o resultado esperado após a repetição.

Quadro 25: Resultados do estudo sobre a precisão com um lote do ensaio BD MAX MDR-TB

Categoria	Concordância com os resultados esperados	
	<i>M. tuberculosis</i> (IC de 95%)	Resistência (IC de 95%)
PM	100% 72/72 (94,9–100,0)	100% 72/72 (94,9–100,0)
PB	100% 72/72 (94,9–100,0)	98,6% 70/71 (92,4–99,8)
TN ^a	100% 72/72 (94,9–100,0)	100% 72/72 (94,9–100,0)

^a Para a categoria de Negativo Verdadeiro (TN), a concordância apresentada indica a percentagem de resultados negativos.

Capacidade de Reprodução

O estudo da capacidade de reprodução entre instrumentos foi realizado com recurso aos mesmos painéis descritos para o estudo da Precisão, acima.

As amostras em cada categoria foram testadas em triplicado, em cinco (5) dias distintos, por dois (2) técnicos diferentes, em três (3) instrumentos diferentes e utilizando um (1) lote de reagentes.

Relativamente à capacidade de reprodução entre instrumentos, a concordância percentual global foi de 100% para as categorias MTB PM, MTB PB, Resistência PM e NV. A concordância percentual global foi de 97,8% para a Resistência PB (Quadro 26).

A capacidade de reprodução quantitativa entre centros e por categoria de amostra é apresentada abaixo no Quadro 27.

Quadro 26: Resultados do estudo sobre a capacidade de reprodução entre instrumentos utilizando um lote do ensaio BD MAX MDR-TB

Categoria	Instrumento 1	Instrumento 2	Instrumento 3	Global	
				Concordância	IC de 95%
NV	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)
MTB PB	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)
Resistência PB	100% (30/30)	96,6% (28/29)	96,7% (29/30)	97,8% (87/89)	(92,2–99,4)
MTB PM	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)
Resistência PM	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)

Quadro 27: Resultados globais do valor CT Score subjacente no estudo sobre a capacidade de reprodução entre instrumentos

Variável	Categoria	Concordantes/N	Média	Intra-execução		Entre execuções no mesmo dia		Entre dias		Entre instrumentos		Global	
				DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV
Valor Ct (MTB1)	PM	59/90	38,6	0,81	2,1	0,00	0,0	0,21	0,6	0,00	0,0	0,84	2,2
	PB	52/90	38,5	0,88	2,3	0,38	1,0	0,00	0,0	0,18	0,5	0,98	2,5
Valor Ct (MTB2)	PM	90/90	35,8	0,70	1,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,12	0,3	0,71	2,0
	PB	90/90	36,1	0,74	2,1	0,00	0,0	0,06	0,2	0,29	0,8	0,80	2,2

NOTA: Os valores apresentados foram obtidos para o alvo nas amostras que produziram um resultado MTB Detetado.

No estudo da capacidade de reprodução entre lotes, foram testadas três réplicas de amostras em cada categoria com três lotes de reagentes num único instrumento, com 2 execuções por dia ao longo de cinco dias distintos. Os painéis utilizados foram os mesmos descritos na

secção Precisão acima. Foram utilizados resultados de 5 dias do estudo entre instrumentos para representar dados para um lote de reagentes no estudo entre lotes. Relativamente à capacidade de reprodução entre lotes, a concordância percentual global foi de 98,9% para as categorias MTB PM, MTB PB e Resistência PM; 96,6% para Resistência PB; e 100% para NV, respetivamente (Quadro 28).

Quadro 28: Resultados do estudo sobre a capacidade de reprodução entre lotes utilizando três lotes do ensaio BD MAX MDR-TB

Categoria	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Global	
				Concordância	IC de 95%
NV	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9%, 100%)
MTB PB	100% (30/30)	100% (30/30)	96,7% (29/30)	98,9% (89/90)	(94,0%, 99,8%)
Resistência PB	96,6% (28/29)	96,7% (29/30)	96,7% (29/30)	96,6% (86/89)	(90,6%, 98,8%)
MTB PM	100% (30/30)	100% (30/30)	96,7% (29/30)	98,9% (89/90)	(94,0%, 99,8%)
Resistência PM	100% (30/30)	96,7% (29/30)	100% (30/30)	98,9% (89/90)	(94,0%, 99,8%)

Carry-Over/Contaminação Cruzada

Foi realizado um estudo para investigar o efeito de carryover intra-ensaio e entre ensaios durante o processamento de amostras com carga bacteriana alta de MTBC no ensaio BD MAX MDR-TB. O painel positivo foi produzido por introdução de um microrganismo do MTBC em expetoração tratada com STR, a uma concentração de 1×10^6 UFC/ml. Os membros negativos do painel não continham qualquer microrganismo MTBC. Doze (12) réplicas do membro do painel positivo alto e 12 réplicas do membro do painel negativo foram testadas em cada execução, com alternância de amostras negativas e positivas. No total, foram processadas 9 execuções em vários instrumentos, cada execução com 24 amostras. Entre as 108 amostras negativas testadas neste estudo, uma amostra produziu um resultado positivo.

BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2017. Geneva: WHO, 2017.
2. World Health Organization. Framework of Indicators and Targets for Laboratory Strengthening under the End TB Strategy Geneva: WHO, 2016.
3. Pai M, Schito M. *Tuberculosis* diagnostics in 2015: landscape, priorities, needs, and prospects. J Infect Dis 2015; 211 Suppl 2:S21-8.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to the latest edition).
5. Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood L.C. and Wislon D.E. (eds) (2009). HHS Publication No. (CDC) 21–1112.
6. Leber, Amy L. (ed.) 2016. Clinical Microbiology Handbook. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology – A Guide for the Level III Laboratory, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546
8. BD MAX System User's Manual (refer to the latest version) BD Life Sciences, Sparks, MD 21152 USA.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline. Document MM3 (refer to the latest edition).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test performance; Approved Guideline, Document EP12 (refer to the latest edition).

Histórico de alterações

Revisão	Data	Resumo das alterações
(08)	2019-06	Atualização da R/S para a estirpe com ID TB112 no Quadro 19. Atualização do limite de detecção em expetoração (UFC/ml) para <i>M. tuberculosis</i> (H37Rv) MTBC no Quadro 21.
(09)	2020-05	Conversão das instruções de utilização impressas para formato eletrônico e adição das informações de acesso para obtenção do documento a partir de bd.com/e-labeling . Clarificação da utilização prevista. Adição de informações à secção Reagentes e Materiais. Atualização das Figuras 1, 2 e 3. Adição de limitação relativa a doentes pediátricos. Atualização e clarificação da secção Características do desempenho. Atualização dos endereços dos patrocinadores na Austrália e na Nova Zelândia.
(10)	2020-11	Atualização das informações do Sistema Globalmente Harmonizado (GHS) na secção Advertências e Precauções. Os quadros sobre o desempenho foram revistos após uma melhoria da detecção da resistência à RIF através de software. Esta alteração resultou numa atualização dos valores da detecção de RIF presentes e referentes aos quadros 2, 3, 5, 8, 9, 15, 16, 19, 25, 26 e 28.

Alguns símbolos listados abaixo poderão não ser aplicáveis a este produto.

	Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbicante / Атқарушы / 제조업체 / Gamintojas / Razotājs / Tilvīrker / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / 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 / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izljetot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použít 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) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned) 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) EEEE-HH-NN / EEEE-HH (HH = hónap utolsó napja) AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) ЖОЖОЖ-АА-КК / ЖОЖОЖ-АА / (АА = айдың соңы) YYYY-MM-DD/YYYY-MM (MM = 월말) MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga) GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas) JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutten av månaden) 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) AAAA-MM-DD / AAAA-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 / Katalogusszám / Numero di catalogo / Katalog nómíri / 카탈로그 번호 / Katalogo / numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalogové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом / 目录号
	Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant / De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter 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 Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségekben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 유럽 공동체의 위임 대표 / Įgalotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovanu predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu Yetkili 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 meditsiniparatuur / 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 жүргізілетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostic 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietaisais / Medicinas ierices, 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 ин витро / Medicinska rombcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Dijagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский прибор для диагностики ин витро / 体外诊断医疗设备
	Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturi piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / 온도 제한 / Laikymo temperatūra / Temperatūros ierobojojumi / Temperaturilimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ograničenje toploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sicaklık 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 (lotto) / Топтама коды / 배치 코드(로트) / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (lot) / 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 miktarda 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 / Luedga kastutusjuhendit / 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 bruksanvisningen / 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 / Kullanım Talimatları na başvurun / Див. інструкції з використання / 请参阅使用说明
	Do not reuse / Не използвайте отново / Nepoužívejte opakovaně / Ikke til genbrug / Nicht wiederverwenden / Μην επαναχρησιμοποιείτε / No reutilizar / Mitte kasutada korduvalt / Ne pas réutiliser / Ne koristiti ponovo / Egyszer használatos / Non riutilizzare / Пайдаланбаңыз / 재사용 금지 / Tik vienkartiniam naudojimui / Nelietot atkārtoti / Niet opnieuw gebruiken / Kun til engangsbruk / Nie stosować powtórnie / Não reutilize / Nu refolosiți / Не использовать повторно / Nepoužívajte opakovane / Ne upotrebļavajite ponovo / Får ej återanvändas / Tekrar kullannayin / Не використовувати повторно / 请勿重复使用
	Serial number / Сериен номер / Sériové číslo / Seriennummer / Seriennummer / Σειριακός αριθμός / N° de serie / Seerianumber / Numéro de série / Serijski broj / Sorozatszám / Numero di serie / Топтамалық нөмірі / 일련 번호 / Serijos numeris / Sėrijas numurs / Serie nummer / Numer seryjny / Numéro de série / Număr de serie / Серийный номер / Seri numarası / Номер серії / 序列号
	For IVD Performance evaluation only / Само за оценка качеството на работа на IVD / Pouze pro vyhodnocení výkonu IVD / Kun til evaluering af IVD ydelse / Nur für IVD-Leistungsbewertungszwecke / Μόνο για αξιολόγηση απόδοσης IVD / Sólo para la evaluación del rendimiento en diagnóstico in vitro / Ainult IVD seadme hindamiseks / Réserve à l'évaluation des performances IVD / Samo u znanstvene svrhe za In Vitro Dijagnostiku / Kizárólag in vitro diagnosztikához / Solo per valutazione delle prestazioni IVD / Жасанды жағдайда «пробирка ішінде» диагностикада тек жұмысты бағалау үшін / IVD 성능 평가에 대해서만 사용 / Tik IVD prietaisų veikimo charakteristikoms tikrinti / Vienigi IVD darbības novērtēšanai / Uitsluitend voor doeltreffendheidsonderzoek / Kun for evaluering av IVD-ytelse / Tyko do oceny wydajności IVD / Uso esclusivo para avaliação de IVD / Numai pentru evaluarea performanței IVD / Только для оценки качества диагностики ин витро / Určenie iba na diagnostiku in vitro / Samo za procenu učinka u in vitro dijagnostici / Endast för utvärdering av diagnostisk användning in vitro / Yalnızca IVD Performans değerlendirmesi için / Тільки для оцінювання якості діагностики in vitro / 仅限 IVD 性能评估 For US: "For Investigational Use Only"

	Lower limit of temperature / Долен лимит на температурата / Dolni hranice teploty / Nedre temperaturgrænse / Temperaturuntergrenze / Κατώτερο όριο θερμοκρασίας / Limite inferior de temperatura / Alumine temperatuuripiir / Limite inférieure de température / Najnižza dozvoljena temperatura / Alsó hőmérsékleti határ / Limite inferiore di temperatura / Температураның төменгі рұқсат шегі / 하한 온도 / Žemiausia laikymo temperatūra / Temperatūras zemākā robeža / Laagste temperatuurlimiet / Nedre temperaturgrense / Dolna granica temperatury / Limite mínimo de temperatura / Limită minimă de temperatură / Нижний предел температуры / Spodná hranica teploty / Donja granica temperature / Nedre temperaturgräns / Sicaklık alt sınırı / Минимальна температура / 温度下限
	Control / Контролно / Kontrola / Kontrol / Kontrolle / Μάρτυρας / Kontroll / Contrôle / Controllo / Бақылау / 컨트롤 / Kontrolé / Kontrolle / Controle / Controllo / Контроль / kontroll / Контроль / 对照
	Positive control / Положителен контрол / Pozitivní kontrola / Positiv kontrol / Positive Kontrolle / Θετικός μάρτυρας / Control positivo / Positiivne kontroll / Contrôle positif / Pozitivna kontrola / Pozitiv kontroll / Controllo positivo / Оң бақылау / 양성 컨트롤 / Teigiama kontrolė / Pozitivá kontrola / Positiive controle / Kontrola dodatnia / Controllo positivo / Control pozitiv / Положительный контроль / Pozitif kontrol / Позитивний контроль / 阳性对照试剂
	Negative control / Отрицателен контрол / Negativní kontrola / Negativ kontrol / Negative Kontrolle / Αρνητικός μάρτυρας / Control negativo / Negatiivne kontroll / Contrôle négatif / Negativna kontrola / Negativ kontroll / Controllo negativo / Негативтік бақылау / 음성 컨트롤 / Neigiama kontrolė / Negativá kontrola / Negatieve controle / Kontrola ujemna / Controllo negativo / Control negativ / Отрицательный контроль / Negatif kontrol / Негативний контроль / 阴性对照试剂
	Method of sterilization: ethylene oxide / Метод на стерилизация: этиленов оксид / Způsob sterilizace: etylenoxid / Steriliseringsmetode: ethylenoxid / Sterilisationsmethode: Ethylenoxid / Μέθοδος αποστείρωσης: αιθυλενοξείδιο / Método de esterilización: óxido de etileno / Steriliseerimismetode: etüleenoksiid / Méthode de stérilisation : oxyde d'éthylène / Metoda sterilizacije: etilen oksid / Sterilizálás módszere: etilén-oxid / Metodo di sterilizzazione: ossido di etilene / Sterilizacija etiči – этилен тотыры / 소독 방법: 에틸렌옥사이드 / Sterilizavimo būdas: etileno oksidas / Sterilizēšanas metode: etilēnoksīds / Gesteriliseerd met behulp van ethyleenoxide / Steriliseringsmetode: etylenoksid / Metoda sterylizacji: tlenek etylu / Método de esterilização: óxido de etileno / Metoda de sterilizare: oxid de etilenă / Метод стерилизации: этиленоксид / Metóda sterilizácie: etylénoxid / Metoda sterilizacije: etilen oksid / Steriliseringsmetod: etenoxid / Sterilizasyon yöntemi: etilen oksit / Метод стерилизації: этиленоксидом / 灭菌方法: 环氧乙烷
	Method of sterilization: irradiation / Метод на стерилизация: ирадиация / Způsob sterilizace: záření / Steriliseringsmetode: bestråling / Sterilisationsmethode: Bestrahlung / Μέθοδος αποστείρωσης: ακτινοβολία / Método de esterilización: irradiación / Steriliseerimismetode: kiirgus / Méthode de stérilisation : irradiation / Sterilizálás módszere: besugárzás / Metodo di sterilizzazione: irradiazione / Sterilizacija etiči – сәуле түсірі / 소독 방법: 방사 / Sterilizavimo būdas: radiacija / Sterilizēšanas metode: apstarošana / Gesteriliseerd met behulp van bestraling / Steriliseringsmetode: bestraling / Metoda sterylizacji: napromienianie / Método de esterilização: irradiação / Metodă de sterilizare: iradiere / Метод стерилизации: облучение / Metóda sterilizácie: ožiarenie / Metoda sterilizacije: ozračevanje / Steriliseringsmetod: strålning / Sterilizasyon yöntemi: irradyasyon / Метод стерилизації: опроміненням / 灭菌方法: 辐射
	Biological Risks / Биологични рискове / Biologická rizika / Biologisk fare / Biogefährdung / Βιολογικοί κίνδυνοι / Riesgos biológicos / Bioloogilised riskid / Risques biologiques / Biološki rizik / Biológiallag veszélyes / Rischio biologico / Биологиялык төуекелдер / 생물학적 위험 / Biologinis pavojus / Biologiskie riski / Biologisch risico / Biologisk risiko / Zagrożenia biologiczne / Perigo biológico / Riscuri biologice / Биологическая опасность / Biologické riziko / Biološki rizici / Biologisk risk / Biolojik Riskler / Біологічна небезпека / 生物学风险
	Caution, consult accompanying documents / Внимание, направте справка в придружаващите документи / Pozor! Pristudujte si příloženou dokumentaci! / Forsigtig, se ledsagende dokumenter / Achtung, Begleitdokumente beachten / Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδευτικά έγγραφα / Precaución, consultar la documentación adjunta / Ettevaatust! Lugeka kaasnevat dokumentatsiooni / Attention, consulter les documents joints / Upozorenje, koristi prateću dokumentaciju / Figyelem! Olvassa el a mellékelt tájékoztatót / Attenzione: consultare la documentazione allegata / Абайлаңыз, тиісті құжаттармен танысыңыз / 주의, 동봉된 설명서 참조 / Deme시오, 지으러키에 pridamus dokumentus / Piesardzība, skatīt pavaddokumentus / Voorzichtig, raadpleeg bijgevoegde documenten / Forsiktig, se vedlagt dokumentasjon / Należy zapoznać się z dołączonymi dokumentami / Cuidado, consulte a documentação fornecida / Atenție, consultați documentele însoțitoare / Внимание: см. прилагаемую документацию / Vysťahra, pozri sprievodné dokumenty / Pažnajte! Pogledajte priložena dokumenta / Obs! Se medföljande dokumentation / Dikkat, birlikte verilen belgelere başvurun / Увара: див. супутню документацію / 小心, 请参阅附带文档。
	Upper limit of temperature / Горен лимит на температурата / Horní hranice teploty / Øvre temperaturgrænse / Temperaturobergrenze / Ανώτερο όριο θερμοκρασίας / Limite superior de temperatura / Ülemine temperatuuripiir / Limite supérieure de température / Gornja dozvoljena temperatura / Felső hőmérsékleti határ / Limite superiore di temperatura / Температураның рұқсат етілген жоғарғы шегі / 상한 온도 / Aukščiausia laikymo temperatūra / Augšējā temperatūras robeža / Hoogste temperatuurlimiet / Øvre temperaturgrense / Górná granica temperatury / Limite máximo de temperatura / Limită maximă de temperatură / Верхний предел температуры / Horná hranica teploty / Gornja granica temperature / Øvre temperaturgräns / Sicaklık üst sınırı / Максимальна температура / 温度上限
	Keep dry / Пазете сухо / Skladujte v suchém prostredí / Orbevares tørt / Trockklagen / 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 sausi / Uzglabāt sausu / Droog houden / Hoides tørt / Przechowywać w stanie suchym / Manter seco / A se feri de umezeală / Не допускать попадания влаги / Uchovávať v suchu / Držite na suvom mestu / Förvaras tørt / Kuru bir şekilde muhafaza edin / Берегти від вологи / 请保持干燥
	Collection time / Време на събиране / Čas odběru / Orsa mlingstidspunkt / Entnahmeuhrzeit / Ώρα συλλογής / Hora de recogida / Kogumisaeg / Heure de prélèvement / Sati prikupljanja / Mintavétel időpontja / Ora di raccolta / Жинау уақыты / 수집 시간 / Paėmimo laikas / Savākšanas laiks / Verzameltijd / Tid prøvetaking / Godzina pobrania / Hora de coleta / Ora colectării / Време сбора / Doba odboru / Vreme prikupljanja / Uppsamlingsstid / Toplama zamanı / Час забору / 采集时间
	Peel / Обелете / Otevfete zde / Åbn / Abziehen / Αποκολλήστε / Desprender / Koorida / Décoller / Otvoriti skini / Húzza le / Staccare / Ψετίρη қабатын алып таста / 벗기다 / Plešti čia / Atīmēt / Schillen / Trek av / Oderwać / Destacar / Se dezlipeste / Отклеить / Odrhňte / Oljuštiti / Dra isär / Ayırma / Відклеїти / 撕下
	Perforation / Перфорация / Perforace / Perforering / Διείσδυση / Perforación / Perforatsioon / Perforacija / Perforálás / Perforazione / Тесик тесу / 절취선 / Perforacija / Perforâcija / Perforatie / Perforacja / Perfuração / Perforare / Перфорация / Perforácia / Perforasyon / Перфорация / 穿孔
	Do not use if package damaged / Не използвайте, ако опаковката е повредена / Nepoužívejte, je-li obal poškozený / Må ikke anvendes hvis emballagen er beskadiget / Inhal beschädigter Packungnicht verwenden / Μη χρησιμοποιείτε εάν η συσκευασία έχει υποστεί ζημιά. / No usar si el paquete está dañado / Mitte kasutada, kui pakend on kahjustatud / Ne pas l'utiliser si l'emballage est endommagé / Ne koristiti ako je oštećeno pakiranje / Ne használja, ha a csomagolás sérült / Non usare se la confezione è danneggiata / Ереп пакет бузылган болса, пайдаланба / 패키지가 손상된 경우 사용 금지 / Jei pakutė pažeista, nenaudoti / Nelietot, ja iepakojums bojāts / Niet gebruiken indien de verpakking beschadigd is / Må ikke brukes hvis pakke er skadet / Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone / Não usar se a embalagem estiver danificada / A nu se folosi dacă pachetul este deteriorat / Не использовать при повреждении упаковки / Nepoužívať, ak je obal poškodený / Ne koristite ako je pakovanje oštećeno / Använd ej om förpackningen är skadad / Ambalaj hasar görmüşse kullanmayın / Не використовувати за пошкодженої упаковки / 如果包装破损, 请勿使用
	Keep away from heat / Пазете от топлина / Nevystavujte přilišnému teplu / Må ikke udsættes for varme / Vor Wärme schützen / Κρατήστε το μακριά από τη θερμότητα / Mantener alejado de fuentes de calor / Hoida eemal valgusest / Protéger de la chaleur / Držati dalje od izvora topline / Övja a melegtől / Tenere lontano dal calore / Салқын жерде сақта / 열을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargāt no karstuma / Beschermen tegen warmte / Må ikke utsettes for varme / Przechowywać z dala od źródła ciepła / Manter ao abrigo do calor / A se feri de căldură / Не нагревать / Uchovávať mimo zdroja tepla / Držite dalje od toplote / Får ej utsättas för värme / Isidan uzak tutun / Берегти від дії тепла / 请远离热源
	Cut / Срежете / Odstřihněte / Klip / Schneiden / Κόψτε / Cortar / Lõigata / Découper / Reži / Vágja ki / Tagliare / Keciңiz / 잘라내기 / Kirpti / Nogriezť / Knippen / Kutt / Odciać / Cortar / Decupați / Отрезать / Odstřihněte / Iseći / Klipp / Kesme / Розрізати / 剪下
	Collection date / Дата на събиране / Datum odběru / Opsamlingsdato / Entnahmedatum / Ημερομηνία συλλογής / Fecha de recogida / Kogumiskuupäev / Date de prélèvement / Dani prikupljanja / Mintavétel dátuma / Data di raccolta / Жинаған тізбекүні / 수집 날짜 / Paėmimo data / Savākšanas datums / Verzameldatum / Dato prøvetaking / Data pobrania / Data de coleta / Data colectării / Дата сбора / Datum odboru / Datum prikupljanja / Uppsamlingsdatum / Toplama tarihi / Дата забору / 采集日期
	µl/test / µл/тест / µl/Test / µl/εξέταση / µl/pruebe / µl/teszt / µl/테스트 / мкл/тест / µl/tyrimas / µl/pārbaude / µl/teste / мкл/анализ / µl/检测
	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 svetla / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Қараңғыланған 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 źródła światła / Manter ao abrigo da luz / Ferij de lumină / Хранить в темноте / Uchovávať mimo dosahu svetla / Držite dalje od svetlosti / Får ej utsättas för ljus / Ljuktan uzak tutun / Берегти від дії світла / 请远离光线
	Hydrogen gas generated / Образуван е водород газ / Možnost úniku plynného vodíku / Frembringer hydrogengas / Wasserstoffgas erzeugt / Δημιουργία αερίου υδρογόνου / Producción de gas de hidrógeno / Vesinikgaasi tekitatud / Produit de l'hydrogène gazeux / Sadrži hidrogena vodik / Hydrogen gázt fejleszt / Produzione di gas idrogeno / Газтөктөс сыуги пайда болды / 수소 가스 생성됨 / Išskiria vandenilio dujas / Rodas idėnradis / Waterstofgas gegenereerd / Hydrogengass generert / Powoduje powstanie wodoru / Producção de gás de hidrogénio / Generare gaz de hidrogen / Выделение водорода / Vyrobené použitím vodíka / Oslobada se vodonik / Genererad vätgas / Açığa çıkan hidrojen gazı / Реакция з виділенням водню / 会产生氢气



Patient ID number / ИД номер на пациента / ID pacienta / Patientens ID-nummer / Patienten-ID / Αριθμός αναγνώρισης ασθενούς / Número de ID del paciente / Patsiendi ID / No d'identification du patient / Identifikacijski broj pacijenta / Beteg azonosító száma / Numero ID paziente / Пациенттің идентификациялық нөмірі / 환자 ID 번호 / Paciento identifikavimo numeris / Pacienta ID numurs / Identificatienummer van de patiënt / Pasientens ID-nummer / Numer ID pacienta / Número da ID do doente / Număr ID pacient / Идентификационный номер пациента / Identifikačné číslo pacienta / ID broj pacijenta / Patientnummer / Hasta kimlik numarası / Идентифікатор пацієнта / 患者标识号



Fragile, Handle with Care / Чупливо, Роботете с необходимото внимание. / Křehké. Při manipulaci postupujte opatrně. / Forsigtig, kan gå i stykker. / Zerbrechlich, vorsichtig handhaben. / Εύθραστο. Χειριστείτε το με προσοχή. / Frágil. Manipular con cuidado. / Örn, käsitlese ettevaatlikult. / Fragile. Manipuler avec précaution. / Lomijivo, rukujte pažljivo. / Törékeny! Óvatosan kezelendő. / Fragile, maneggiare con cura. / Сығыш, абайлап пайдаланыңыз. / 조심 깨지기 쉬운 처리 / Trapu, elkítés atsargiai. / Trausls; rūkotių užmanīgi / Breekbaar, voorzichtig behandelen. / Ømtålig, håndter forsiktig. / Krucha zawartość, przenosić ostrożnie. / Frágil, Manuseie com Cuidado. / Frágil, manipulați cu atenție. / Хрупкое! Обращаться с осторожностью. / Křehké, vyžaduje sa opatrná manipulácia. / Lomijivo - rukujte pažljivo. / Bräckligt. Hantera försiktigt. / Kolay Kırılır, Dikkatli Taşıyın. / Тендітна, звертатися з обережністю / 易碎, 小心轻放



bd.com/e-labeling



Assistência Técnica e Suporte: contacte o representante local da BD ou visite bd.com.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
66 Waterloo Road
Macquarie Park NSW 2113
Australia

New Zealand Sponsor:

Becton Dickinson Limited
14B George Bourke Drive
Mt. Wellington Auckland 1060
New Zealand

BD, the BD Logo, BBL, MAX, MGIT, and MycoPrep are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. © 2020 BD. All rights reserved.