

Xpert[®] Carba-R

REF GXCARBAR-CE-10
GXCARBAR-CE-120

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © 2014-2023 Cepheid. All rights reserved.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Phone: +1.408.541.4191
Fax: +1.408.541.4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Phone: +33 563 825 300
Fax: +33 563 825 301

Xpert® Carba-R

Per uso diagnostico *in vitro*.

1 Nome registrato

Xpert® Carba-R

2 Nome comune o usuale

Xpert Carba-R Assay

3 Uso previsto

Il saggio Cepheid Xpert Carba-R Assay, eseguito sui sistemi degli strumenti GeneXpert®, è un test diagnostico qualitativo *in vitro* studiato per individuare e differenziare rapidamente le sequenze geniche *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e *bla*_{IMP-1} associate alla non suscettibilità ai carbapenemi nei batteri Gram-negativi ottenuti da tamponi rettali in pazienti a rischio di colonizzazione intestinale da parte di batteri non suscettibili ai carbapenemi. Il test utilizza la reazione a catena della polimerasi (PCR), automatica e in tempo reale. Il saggio Xpert Carba-R Assay è indicato come ausilio nell'identificazione dei batteri non suscettibili ai carbapenemi che colonizzano i pazienti negli ambienti sanitari. Il saggio Xpert Carba-R Assay non è destinato all'uso come guida o monitoraggio per il trattamento delle infezioni da batteri non suscettibili ai carbapenemi. Per ottenere gli organismi da utilizzare per la tipizzazione epidemiologica, l'analisi della suscettibilità antimicrobica e l'ulteriore identificazione a conferma dei batteri non suscettibili ai carbapenemi sono necessarie colture complementari.

4 Riepilogo e spiegazione

La diffusione mondiale dei batteri produttori di carbapenemasi, appartenenti alla famiglia delle Enterobacteriaceae e alle specie *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter*, ossia gli organismi non suscettibili ai carbapenemi (Carbapenem Non-Susceptible Organisms, CNSO), rappresenta un problema di importanza fondamentale dal punto di vista medico e della sanità pubblica.^{1,2} Questi batteri sono spesso resistenti a tutti gli agenti beta-lattamici e mostrano frequentemente una co-resistenza a varie classi di altri agenti antimicrobici, lasciando spazio a pochissime opzioni di trattamento.³ La diversità emergente degli enzimi che idrolizzano i carbapenemi, nonché la capacità di diffusione dei geni tra le varie specie batteriche rendono complicato il monitoraggio della diffusione dei CNSO. Alcuni geni di resistenza, come i determinanti della carbapenemasi di *Klebsiella pneumoniae* (KPC), sono associati a linee batteriche clonali (es. *K. pneumoniae* ST258),⁴ che si sono affermate mostrando un vantaggio selettivo negli ambienti ospedalieri dove l'uso degli agenti antimicrobici è alto. Le occasioni di trasmissione degli organismi sono spesso frequenti, con un'ulteriore disseminazione dei geni di resistenza attraverso plasmidi e integroni trasmissibili. Il ceppo ST258 di *K. pneumoniae* ha causato varie epidemie in tutto il mondo, soprattutto negli Stati Uniti¹ e in Israele.⁵ Similmente, gli organismi contenenti il gene che codifica per la New Delhi metallo-beta-lattamasi (NDM) sono stati introdotti in Europa da individui che, in molti casi, hanno visitato l'India o il Pakistan.⁶ Un terzo meccanismo di resistenza ai carbapenemi, il percorso in cui è coinvolta la Verona metallo-beta-lattamasi mediata da integroni (VIM), rappresenta un problema in Europa da diversi anni. Altre metallo-beta-lattamasi, come quelle appartenenti alla classe delle imipenemasi (IMP), sono riconosciute da molti anni in Giappone e in altri Paesi asiatici e si stanno ora diffondendo in tutto il mondo,³ mentre la oxacillina di classe D, OXA-48, che è spesso coinvolta nella mediazione della resistenza ai bassi livelli di carbapenemi ma non nella resistenza alle beta-lattamasi ad ampio spettro, si sta ora diffondendo rapidamente in Europa.^{7,8} Al momento, il metodo standard per l'individuazione dei pazienti colonizzati da organismi non suscettibili ai carbapenemi è rappresentato dalla coltura di tamponi rettali o peri-rettali su piastre di agar non selettivo, come l'agar MacConkey, seguita dall'analisi della suscettibilità antimicrobica delle colonie lattosio fermentanti, oppure dall'uso di terreni a base di agar per lo screening selettivo.⁹ Il primo metodo è laborioso e può richiedere diversi giorni per ottenere un risultato finale, mentre il secondo approccio varia considerevolmente in sensibilità e specificità a seconda del terreno selettivo utilizzato. L'utilizzo di un metodo rapido e accurato per effettuare lo screening dei pazienti colonizzati dai CNSO agevolerà i programmi per il controllo delle infezioni ad interrompere la diffusione dei CNSO negli ospedali e nelle altre strutture sanitarie. Negli Stati Uniti, i Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) raccomandano di eseguire lo screening dei pazienti per la colonizzazione da CNSO ogni qualvolta venga individuato all'interno di un ospedale un ceppo di Enterobacteriaceae resistente ai carbapenemi.¹⁰ Molti Paesi europei, tra cui il Regno Unito, la Francia e i Paesi Bassi, hanno inoltre adottato delle politiche nazionali a favore dello screening per i CNSO da effettuare sui pazienti al momento del ricovero, specialmente se tali pazienti provengono dal ricovero ospedaliero in un Paese straniero.⁹

5 Principio della procedura

I sistemi degli strumenti GeneXpert (GX) consentono di automatizzare e integrare la preparazione dei campioni, l'estrazione e l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi, utilizzando i saggi di PCR in tempo reale. I sistemi comprendono uno strumento, un personal computer e un software preinstallato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'uso di cartucce monouso che contengono i reagenti della PCR e ospitano il processo della PCR. Essendo le cartucce chiuse, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa del sistema, consultare il *GeneXpert Dx System Operator Manual* (Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx) o il *GeneXpert Infinity System Operator Manual* (Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity).

Il saggio Xpert Carba-R Assay contiene reagenti per individuare le sequenze geniche *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e *bla*_{IMP-1} nonché un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) per verificare l'adeguatezza del trattamento dei batteri bersaglio e per indicare la presenza di inibitore/i nella reazione della PCR. Il controllo SPC garantisce inoltre che le condizioni della reazione PCR (temperatura e tempo) siano adeguate alla reazione di amplificazione e che i reagenti PCR siano funzionali. Un ulteriore controllo interno, il controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC) verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità del colorante.

I primer e le sonde del saggio Xpert Carba-R Assay rilevano le sequenze proprietarie relative alle sequenze geniche *bla*_{KPC} (KPC), *bla*_{NDM} (NDM), *bla*_{VIM} (VIM), *bla*_{OXA-48} (OXA-48) e *bla*_{IMP-1} (IMP-1) associate alla non suscettibilità ai carbapenemi nei batteri Gram-negativi.

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiali in dotazione



Il kit Xpert Carba-R Assay contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni. Il kit Xpert Carba-R Assay contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 120 campioni. Il contenuto dei kit è il seguente:

Cartucce del saggio Xpert Carba-R Assay con provette di reazione integrate

	10 per kit	120 per kit
• Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate)	1 di ciascuna per cartuccia	1 di ciascuna per cartuccia
• Reagente 1	3 ml per cartuccia	3 ml per cartuccia
• Reagente 2 (cloruro di guanidina)	2,5 ml per cartuccia	2,5 ml per cartuccia

Flaconcini di reagente per il campione Xpert Carba-R Assay

	10 per kit	120 per kit
• Reagente per il campione	5,0 ml per flaconcino	5,0 ml per flaconcino

Pipette di trasferimento monouso (1,7 ml)

	10 per kit	120 per kit
CD	1 per kit	1 per kit

- File di definizione del saggio (Assay Definition Files, ADF)
- Istruzioni per l'importazione dei file ADF all'interno del software
- Foglietto illustrativo

Nota

Le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili sul sito www.cepheid.com o sul sito www.cepheidinternational.com nella scheda **SUPPORT** (ASSISTENZA).

Nota

L'albumina di siero bovino (BSA) presente nelle microsfele di questo prodotto è stata prodotta esclusivamente da plasma bovino di origine statunitense. Gli animali non sono stati nutriti con proteine di ruminanti o altre proteine animali; gli animali hanno superato i test ante mortem e post mortem. Durante l'analisi, il materiale non è stato miscelato con altro materiale animale.

6.2 Conservazione e manipolazione



- Le cartucce e i reagenti del saggio Xpert Carba-R Assay vanno conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.

- Aprire le cartucce solo immediatamente prima di eseguire il test.



- Non utilizzare i reagenti o le cartucce oltre la data di scadenza.
- Il reagente per il campione è un liquido trasparente incolore. Non usare il reagente per il campione se appare torbido o scolorito.
- Usare la cartuccia entro 30 minuti dall'apertura del coperchio.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.

6.3 Materiali necessari ma non forniti

- Sistemi di strumentazione GeneXpert Dx o GeneXpert Infinity (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre e Manuale dell'operatore.
 - Per il sistema GeneXpert Dx: software GeneXpert Dx versione 4.3 o successiva
- Dispositivo di prelievo del campione di analisi: Numero di catalogo Cepheid 900-0370
- Stampante: se fosse necessario l'uso di una stampante, contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Miscelatore vortex

7 Avvertenze e precauzioni



- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso i CDC (Centers for Disease Control and Prevention)¹¹ statunitensi e presso il Clinical and Laboratory Standards Institute (ex National Committee for Clinical Laboratory Standards).¹²

- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, attenersi alle procedure di sicurezza del proprio presidio.
- Consultare il personale addetto allo smaltimento dei rifiuti ambientali della propria struttura per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti inutilizzati. Controllare le normative regionali e locali in quanto possono differire dalle normative nazionali sullo smaltimento. Questo materiale può presentare caratteristiche tipiche dei rifiuti pericolosi e richiedere specifici requisiti di smaltimento. Gli istituti sono tenuti a controllare le normative sullo smaltimento dei rifiuti pericolosi in vigore nel paese di appartenenza.
- Si consiglia di adottare le buone pratiche di laboratorio, tra cui cambiarsi i guanti durante la manipolazione dei campioni di analisi dei pazienti, nel passaggio da un campione all'altro, al fine di evitare la contaminazione di tali campioni o dei reagenti.
- Non sostituire il reagente per il campione del saggio Xpert Carba-R Assay con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia del saggio Xpert Carba-R Assay fino a quando non si è pronti per aggiungere il campione eluito dal tampone.
- Non utilizzare una cartuccia che è caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia cade o viene agitata dopo l'apertura del coperchio, si potrebbero ottenere risultati non validi.
- Non applicare l'etichetta con l'ID del campione sul coperchio della cartuccia o sull'etichetta del codice a barre.



- Ogni cartuccia monouso del saggio Xpert Carba-R Assay deve essere adoperata per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce usate.

- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione sia danneggiata.
- Indossare i guanti e il camice da laboratorio. Cambiarsi i guanti quando si passa da un campione all'altro durante il trattamento dei campioni.
- Nel caso in cui l'area di lavoro o le apparecchiature vengano contaminate dai campioni o dai controlli, pulire a fondo le superfici interessate con una soluzione di candeggina per uso domestico a base di ipoclorito di sodio diluito 1:10 e poi con una soluzione di etanolo al 70% o isopropanolo al 70%. Asciugare completamente le superfici di lavoro prima di continuare.



- Il reagente 2 contiene cloruro di guanidina (H302, nocivo se ingerito; H315, provoca irritazione cutanea; e H319, provoca grave irritazione oculare).

8 Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

1. Prelevare una coppia di tamponi rettali inserendo con cura entrambe le punte del tampone per circa 1 cm oltre lo sfintere anale e ruotando delicatamente.
2. Ricollocare la coppia di tamponi nella provetta di trasporto di provenienza.
3. I tamponi possono essere conservati nella provetta di trasporto tra 15 °C e 28 °C fino a sei ore e successivamente tra 2 °C e 28 °C per sette giorni.
4. I tamponi rettali conservati nel reagente per il campione il giorno della raccolta possono essere conservati tra 2 °C e 28 °C fino a quattro giorni.

9 Procedura

9.1 Preparazione della cartuccia

Importante Collocare la cartuccia all'interno dello strumento GeneXpert entro 30 minuti dall'aggiunta del campione alla cartuccia.

Per aggiungere il campione da tampone alla cartuccia:

1. Estrarre dal kit la cartuccia e il flaconcino di reagente per il campione.
2. Aprire uno dei flaconcini di reagente per il campione forniti con il kit e inserire un tampone al suo interno.
3. Rimettere il tampone non utilizzato nella provetta di trasporto e conservarlo tra 2 °C e 28 °C. Vedere la Sezione 8.

Nota

Avvolgere una garza sterile attorno all'asta del tampone e all'imboccatura della provetta per ridurre al minimo il rischio di contaminazione.

4. Tenere il tampone vicino al bordo del flaconcino reggendolo dall'asta, sollevare il tampone di qualche millimetro dal fondo del flaconcino e piegare l'asta sul bordo del flaconcino per spezzarla all'altezza della tacca, affinché il tampone risulti sufficientemente corto da entrare all'interno del flaconcino; in questo modo sarà possibile chiudere bene il tappo.
5. Chiudere il tappo del reagente per il campione e miscelare su vortex ad alta velocità per 10 secondi.
6. Aprire il coperchio della cartuccia. Utilizzando la pipetta di trasferimento in dotazione, aspirare il reagente per il campione fino alla tacca sulla pipetta (che corrisponde a circa 1,7 ml; vedere la Figura 1), quindi trasferire il materiale all'interno della camera della cartuccia Xpert Carba-R riservata al campione. Vedere la Figura 2. Il campione residuo contenuto nel flaconcino di reagente per il campione può essere conservato tra 2 °C e 28 °C fino a quattro giorni dalla raccolta nel caso fosse necessario ripetere il test.

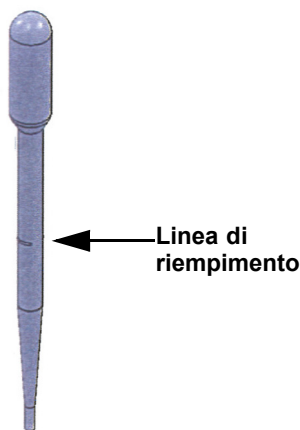


Figura 1. Pipetta di trasferimento per trasferire il campione alla cartuccia

7. Chiudere il coperchio della cartuccia e introdurre la cartuccia nello strumento GeneXpert entro 30 minuti.

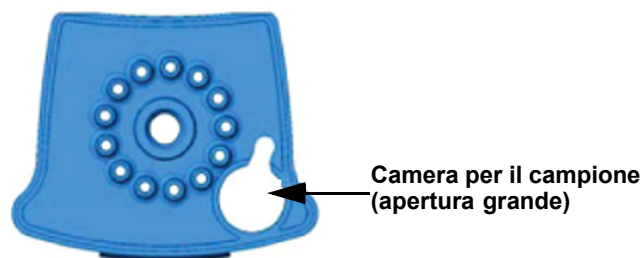


Figura 2. Cartuccia del saggio Xpert Carba-R Assay (vista dall'alto)

9.2 Avvio del test

Importante Prima di iniziare il test, accertarsi che il file di definizione del saggio Xpert Carba-R Assay sia stato importato all'interno del software. Questa sezione elenca le fasi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, consultare il *GeneXpert Dx System Operator Manual* (Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx) o il *GeneXpert Infinity System Operator Manual* (Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity).

Nota I passaggi da seguire possono variare se l'amministratore del sistema modifica il flusso di lavoro predefinito del sistema.

1. Accendere il sistema dello strumento GeneXpert:
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Dx, accendere prima lo strumento e poi il computer. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente, oppure potrebbe essere necessario fare doppio clic sull'icona del collegamento del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Infinity, accendere lo strumento. Il software Xpertise si avvierà automaticamente, oppure potrebbe essere necessario fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows.
2. Connettersi al software del sistema dello strumento GeneXpert con il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema GeneXpert, fare clic su **Crea analisi** (GeneXpert Dx) oppure fare clic su **Orders** (Ordini) e **Order Test** (Ordina analisi) (Infinity).
4. Eseguire la scansione dell'ID del paziente (opzionale). Se l'ID del paziente viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del paziente è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra Visualizza risultati.
5. Eseguire la scansione o digitare l'ID del campione. Se l'ID del campione viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del campione è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra Visualizza risultati.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia del saggio Xpert Carba-R Assay. Usando le informazioni contenute nel codice a barre, il software riempie automaticamente le caselle corrispondenti ai seguenti campi: Seleziona saggio, ID lotto reagente, N/S cartuccia e Data di scadenza.

Nota Se il codice a barre impresso sulla cartuccia del saggio Xpert Carba-R non viene acquisito, impostare un nuovo test seguendo la procedura di ripetizione del test descritta nella Sezione 13.

7. Fare clic su **Avvia analisi** (GeneXpert Dx) o **Submit** (Inoltra) (Infinity). Immettere la password, se richiesto.
8. Per il sistema GeneXpert Infinity, posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. La cartuccia verrà caricata automaticamente, il test verrà eseguito e la cartuccia usata verrà collocata nel contenitore dei rifiuti.
 - oppure
 - Per lo strumento GeneXpert Dx:
 - A. Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
 - B. Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde cessa di lampeggiare. Al termine del test, la spia si spegne.
 - C. Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo. Quindi rimuovere la cartuccia.
 - D. Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori per rifiuti biologici attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

9.3 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate su come visualizzare e stampare i risultati, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*.

1. Per visualizzare i risultati, fare clic sull'icona **Visualizza risultati**.
2. Una volta completato il test, fare clic sul pulsante **Rapporto** nella finestra Visualizza risultati per visualizzare e/o generare un file del rapporto in formato pdf.

10 Controllo qualità

CONTROL

Controlli di qualità incorporati

Ciascun test comprende un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC).

- **Controllo per il trattamento dei campioni (SPC)** – Assicura che il campione sia stato trattato correttamente. Il controllo SPC contiene spore di *Bacillus globigii* sotto forma di microsfele essiccate, presenti in ogni cartuccia per verificare il corretto trattamento del campione. L'SPC verifica che sia avvenuta la lisi dei batteri se gli organismi sono presenti e verifica l'adeguatezza del trattamento del campione. Questo controllo rileva inoltre l'inibizione del saggio di PCR in tempo reale associata al campione, garantisce che le condizioni di reazione della PCR (temperatura e tempo) siano adeguate alla reazione di amplificazione e che i reagenti per la PCR siano funzionali. L'SPC deve essere positivo in un campione negativo e può essere negativo o positivo in un campione positivo. L'SPC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controllo per la verifica della sonda (PCC)** – Prima che inizi la reazione PCR, il sistema GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsfele, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti. La verifica della sonda si considera riuscita qualora siano soddisfatti i criteri di accettazione assegnati.

Controlli esterni

Possono essere usati controlli esterni, in conformità con gli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

11 Interpretazione dei risultati

I risultati vengono interpretati dal sistema GeneXpert, a partire dai segnali fluorescenti misurati e dagli algoritmi di calcolo incorporati e vengono visualizzati nella finestra Visualizza risultati. Le schermate acquisite e le interpretazioni relative a tutte le combinazioni di risultati possibili con i cinque analiti bersaglio nel saggio Xpert Carba-R Assay non vengono visualizzate; tuttavia, gli esempi seguenti sono indicativi del tipo di risultati che ci si può attendere.

Nota

La tabella e le figure riportate di seguito mostrano solo gli esempi rappresentativi dei tipi di risultati che ci si può attendere con il saggio Xpert Carba-R Assay. Non sono riportate tutte le combinazioni di risultati possibili con i cinque analiti bersaglio.

Tabella 1. Risultati rappresentativi per il saggio Xpert Carba-R Assay e interpretazione

Risultato	Interpretazione
IMP1 RILEVATO; VIM NON RILEVATO; NDM NON RILEVATO; KPC NON RILEVATO; OXA48 NON RILEVATO Vedere la Figura 3.	La sequenza bersaglio del DNA di IMP-1 è stata rilevata; le sequenze bersaglio del DNA di VIM, NDM, KPC e OXA-48 non sono state rilevate. <ul style="list-style-type: none"> • L'amplificazione mediante PCR della sequenza bersaglio del DNA di IMP-1 fornisce un valore Ct entro l'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato; le sequenze bersaglio del DNA di VIM, NDM, KPC e OXA-48 sono assenti o al di sotto del livello di rilevamento del saggio. • SPC: non applicabile Il risultato relativo all'SPC viene ignorato perché l'amplificazione della sequenza bersaglio del DNA di IMP-1 può competere con questo controllo. • PCC: RIUSCITO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Tabella 1. Risultati rappresentativi per il saggio Xpert Carba-R Assay e interpretazione (continua)

Risultato	Interpretazione
IMP1 NON RILEVATO; VIM RILEVATO; NDM NON RILEVATO; KPC NON RILEVATO; OXA48 NON RILEVATO Vedere la Figura 4.	<p>La sequenza bersaglio del DNA di VIM è stata rilevata; le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, NDM, KPC e OXA-48 non sono state rilevate.</p> <ul style="list-style-type: none"> L'amplificazione mediante PCR della sequenza bersaglio del DNA di VIM fornisce un valore Ct entro l'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato; le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, NDM, KPC e OXA-48 sono assenti o al di sotto del livello di rilevamento del saggio. SPC: non applicabile Il risultato relativo all'SPC viene ignorato perché l'amplificazione della sequenza bersaglio del DNA di VIM può competere con questo controllo. PCC: RIUSCITO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
IMP1 NON RILEVATO; VIM RILEVATO; NDM RILEVATO; KPC NON RILEVATO; OXA48 NON RILEVATO Vedere la Figura 5.	<p>Le sequenze bersaglio del DNA di VIM e NDM sono state rilevate; le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, KPC e OXA-48 non sono state rilevate.</p> <ul style="list-style-type: none"> L'amplificazione mediante PCR delle sequenze bersaglio del DNA di VIM e NDM fornisce valori Ct entro gli intervalli di validità ed endpoint di fluorescenza al di sopra dei valori soglia impostati; le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, KPC e OXA-48 sono assenti o al di sotto del livello di rilevamento del saggio. SPC: non applicabile Il risultato relativo all'SPC viene ignorato perché le amplificazioni delle sequenze bersaglio del DNA di VIM e NDM possono competere con questo controllo. PCC: RIUSCITO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
IMP1 RILEVATO; VIM NON RILEVATO; NDM RILEVATO; KPC NON RILEVATO; OXA48 NON RILEVATO Vedere la Figura 6.	<p>Le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1 e NDM sono state rilevate; le sequenze bersaglio del DNA di VIM, KPC e OXA-48 non sono state rilevate.</p> <ul style="list-style-type: none"> L'amplificazione mediante PCR delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1 e NDM fornisce valori Ct entro gli intervalli di validità ed endpoint di fluorescenza al di sopra dei valori soglia impostati; le sequenze bersaglio del DNA di VIM, KPC e OXA-48 sono assenti o al di sotto del livello di rilevamento del saggio. SPC: non applicabile Il risultato relativo all'SPC viene ignorato perché le amplificazioni delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1 e NDM possono competere con questo controllo. PCC: RIUSCITO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
IMP1 RILEVATO; VIM RILEVATO; NDM NON RILEVATO; KPC NON RILEVATO; OXA48 RILEVATO Vedere la Figura 7.	<p>Le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM e OXA-48 sono state rilevate; le sequenze bersaglio del DNA di NDM e KPC non sono state rilevate.</p> <ul style="list-style-type: none"> L'amplificazione mediante PCR delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM e OXA-48 fornisce valori Ct entro gli intervalli di validità ed endpoint di fluorescenza al di sopra dei valori soglia impostati; le sequenze bersaglio del DNA di KPC e NDM sono assenti o al di sotto del livello di rilevamento del saggio. SPC: non applicabile Il risultato relativo all'SPC viene ignorato perché le amplificazioni delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM e OXA-48 possono competere con questo controllo. PCC: RIUSCITO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
IMP1 RILEVATO; VIM RILEVATO; NDM RILEVATO; KPC NON RILEVATO; OXA48 RILEVATO Vedere la Figura 8.	<p>Le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM e OXA-48 sono state rilevate; la sequenza bersaglio del DNA di KPC non è stata rilevata.</p> <ul style="list-style-type: none"> L'amplificazione mediante PCR delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM e OXA-48 fornisce valori Ct entro gli intervalli di validità ed endpoint di fluorescenza al di sopra dei valori soglia impostati; la sequenza bersaglio del DNA di KPC è assente o al di sotto del livello di rilevamento del saggio. SPC: non applicabile Il risultato relativo all'SPC viene ignorato perché le amplificazioni delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM e OXA-48 possono competere con questo controllo. PCC: RIUSCITO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Tabella 1. Risultati rappresentativi per il saggio Xpert Carba-R Assay e interpretazione (continua)

Risultato	Interpretazione
IMP1 RILEVATO; VIM RILEVATO; NDM RILEVATO; KPC RILEVATO; OXA48 RILEVATO Vedere la Figura 9.	<p>Le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 sono state rilevate.</p> <ul style="list-style-type: none"> L'amplificazione mediante PCR delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 fornisce valori Ct entro gli intervalli di validità ed endpoint di fluorescenza al di sopra dei valori soglia impostati. SPC: non applicabile Il risultato relativo all'SPC viene ignorato perché le amplificazioni delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 possono competere con questo controllo. PCC: RIUSCITO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
IMP1 NON RILEVATO; VIM NON RILEVATO; NDM NON RILEVATO; KPC NON RILEVATO; OXA48 NON RILEVATO Vedere la Figura 10.	<p>Le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 non sono state rilevate.</p> <ul style="list-style-type: none"> Le sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 sono assenti o al di sotto del livello di rilevamento del saggio. SPC: RIUSCITO; L'amplificazione mediante PCR della sequenza bersaglio del DNA dell'SPC fornisce un valore Ct entro l'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato. PCC: RIUSCITO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
NON VALIDO Vedere la Figura 11.	<p>La presenza o l'assenza delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 non può essere determinata. Per ripetere il test, fare riferimento alle istruzioni riportate nella Sezione 13, Procedura di ripetizione del test.</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: NON RIUSCITO; Non è stata amplificata nessuna sequenza del DNA dell'SPC, oppure il valore Ct dell'SPC non rientra nell'intervallo di validità e l'endpoint di fluorescenza è al di sotto del valore soglia impostato. PCC: RIUSCITO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERRORE	<p>La presenza o l'assenza delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 non può essere determinata. Per ripetere il test, fare riferimento alle istruzioni riportate nella Sezione 13, Procedura di ripetizione del test.</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: NESSUN RISULTATO PCC: NON RIUSCITO*; uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi. Il PCC probabilmente non è riuscito perché la provetta di reazione è stata riempita in modo non appropriato o è stato rilevato un problema di integrità della sonda. <p>* Se la verifica della sonda ha avuto esito positivo, l'errore è dovuto a un guasto di un componente del sistema.</p>
NESSUN RISULTATO	<p>La presenza o l'assenza delle sequenze bersaglio del DNA di IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 non può essere determinata. Per ripetere il test, fare riferimento alle istruzioni riportate nella Sezione 13, Procedura di ripetizione del test. La quantità di dati raccolta non è sufficiente per generare i risultati del test (l'operatore, per esempio, ha interrotto un'analisi mentre era in corso oppure si è verificata un'interruzione di corrente).</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: NESSUN RISULTATO PCC: Non applicabile

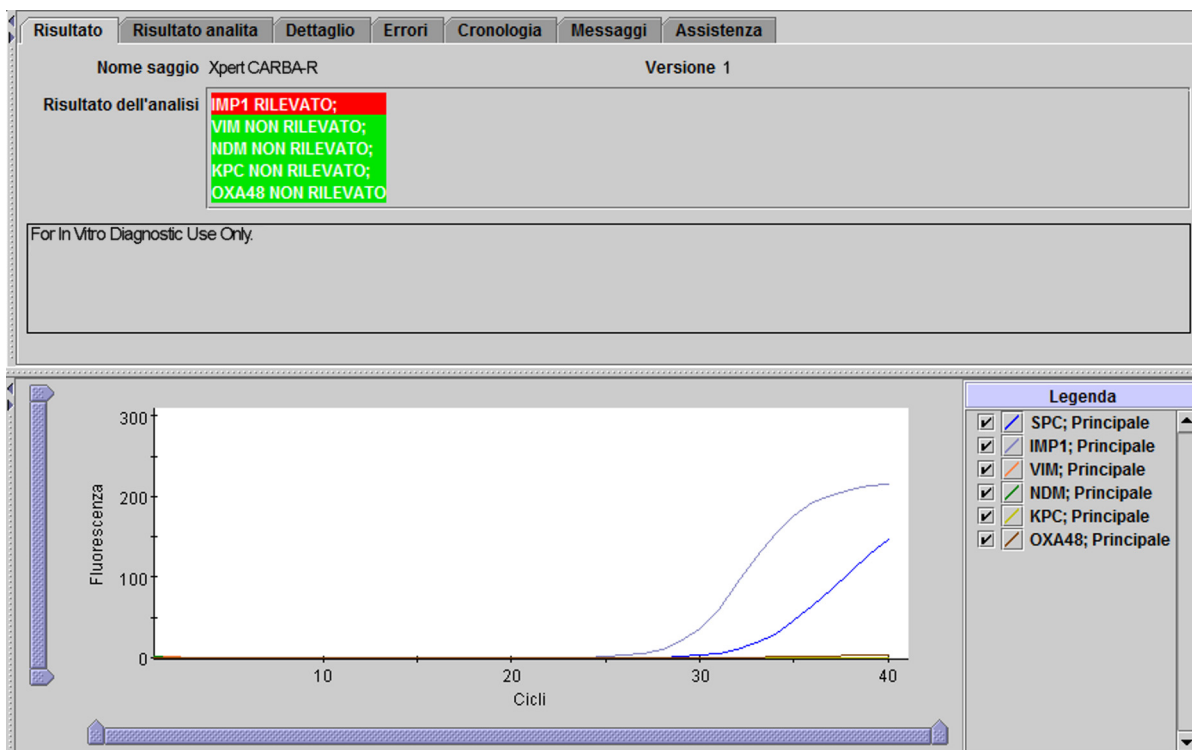


Figura 3. Carba-R Assay – IMP-1 rilevato

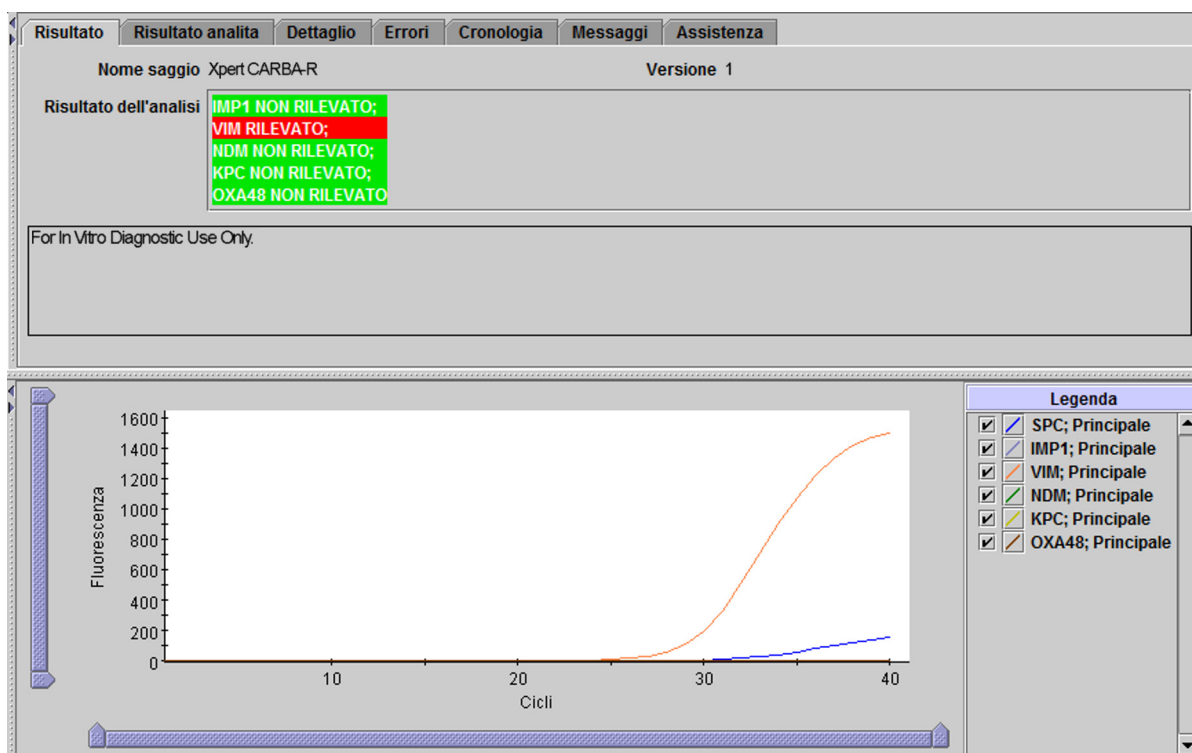


Figura 4. Carba-R Assay – VIM rilevato

Nota Gli esempi relativi ai campioni NDM positivi, KPC positivi e OXA positivi non sono riportati.

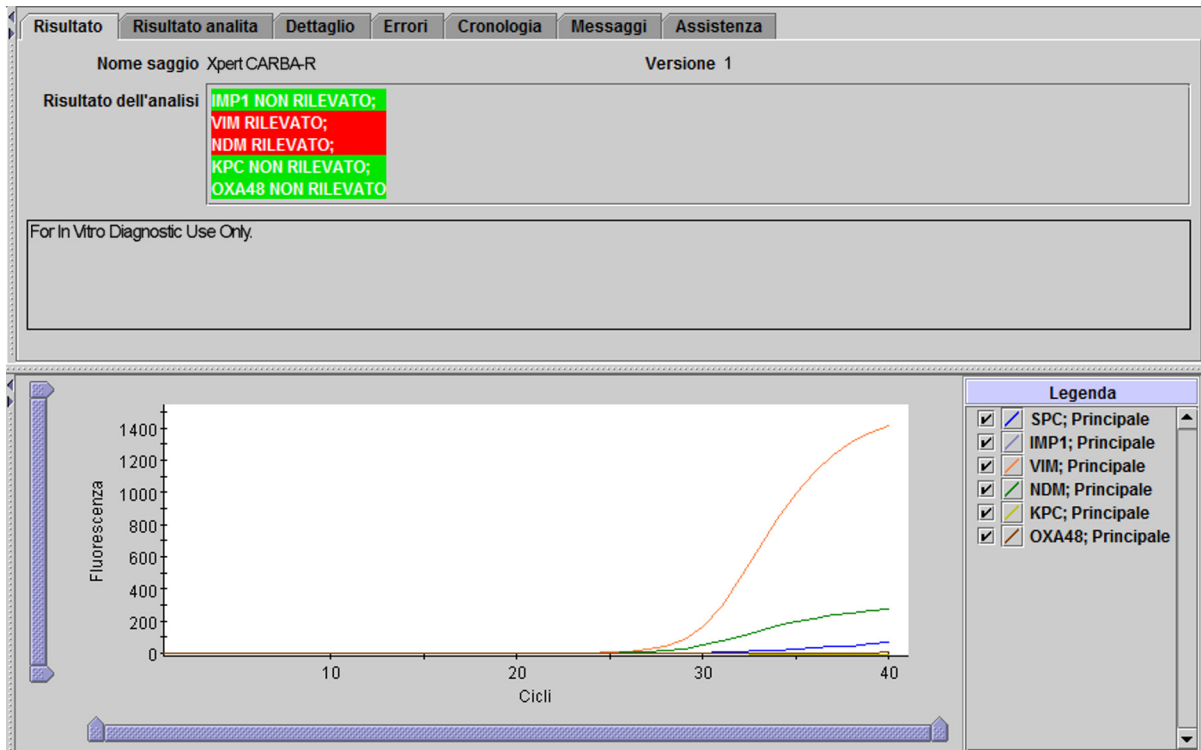


Figura 5. Carba-R Assay – VIM e NDM rilevati

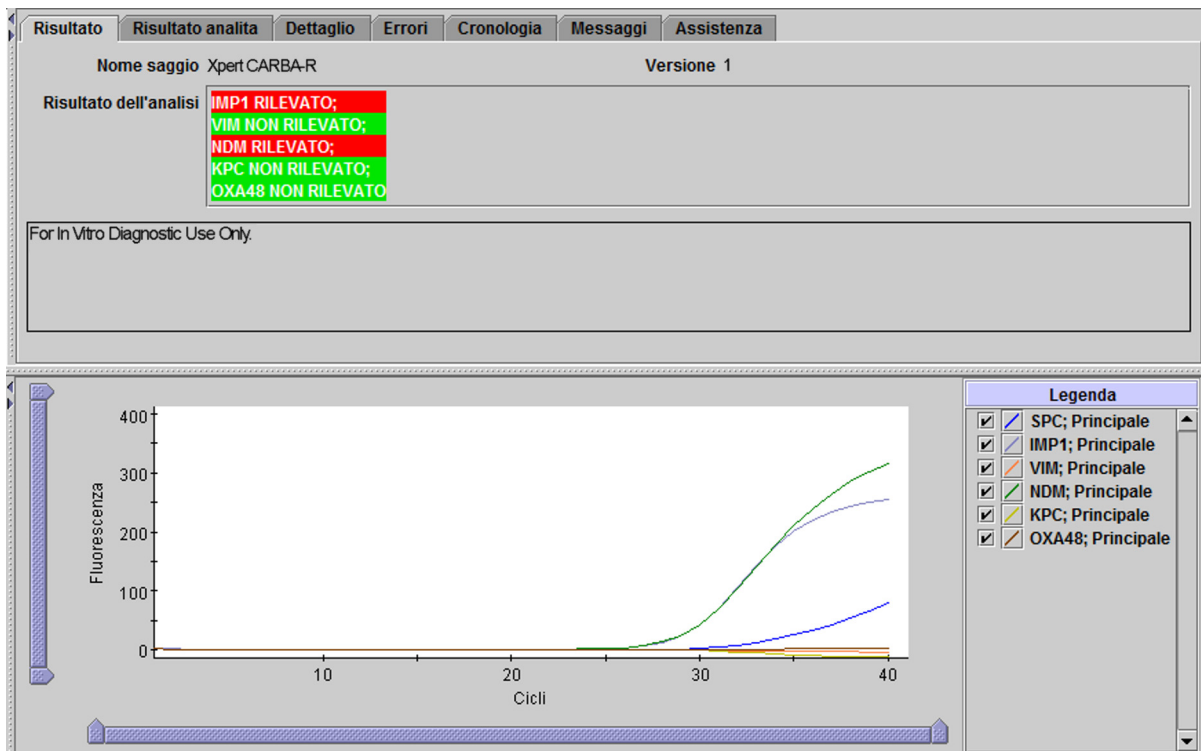


Figura 6. Carba-R Assay – IMP-1 e NDM rilevati

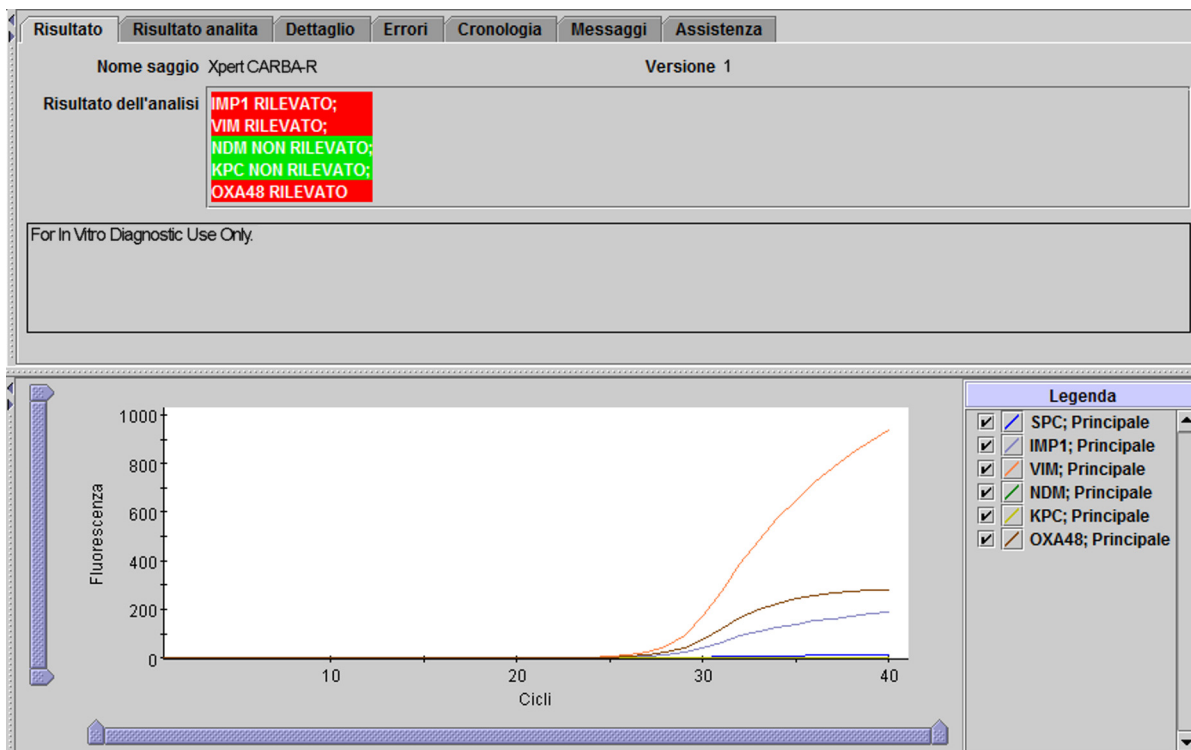


Figura 7. Carba-R Assay – IMP-1, VIM e OXA-48 rilevati

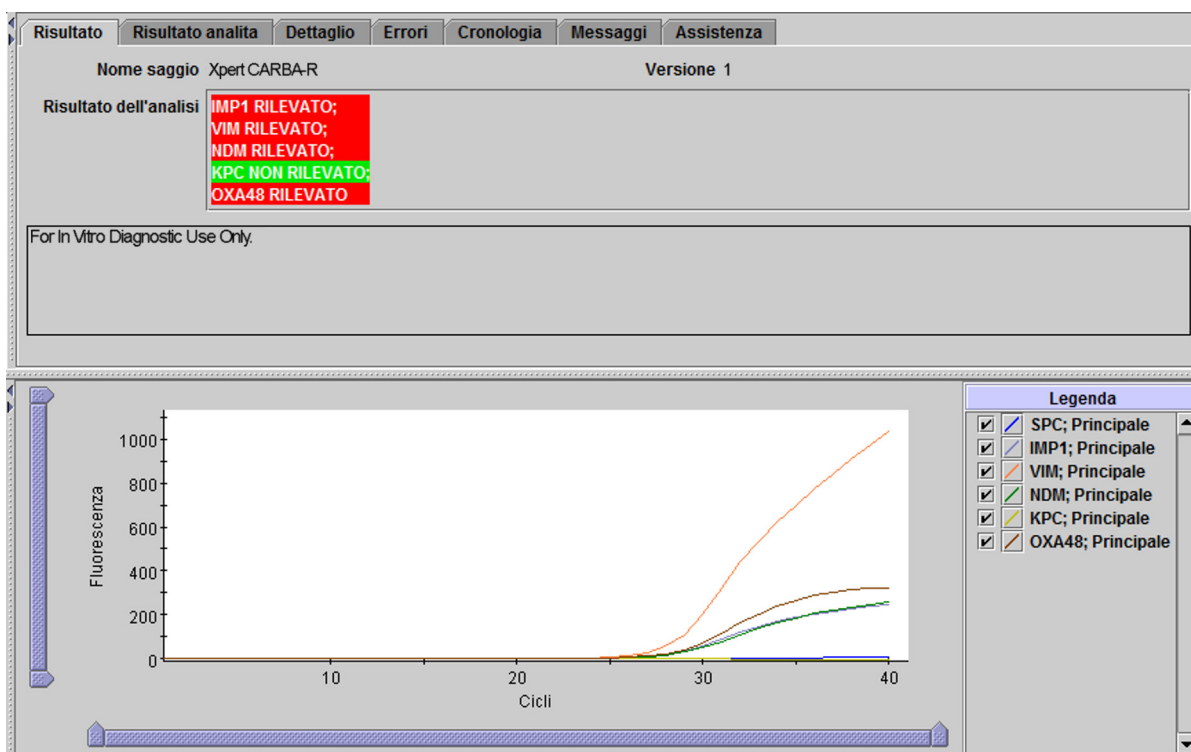


Figura 8. Carba-R Assay – IMP-1, VIM, NDM e OXA-48 rilevati

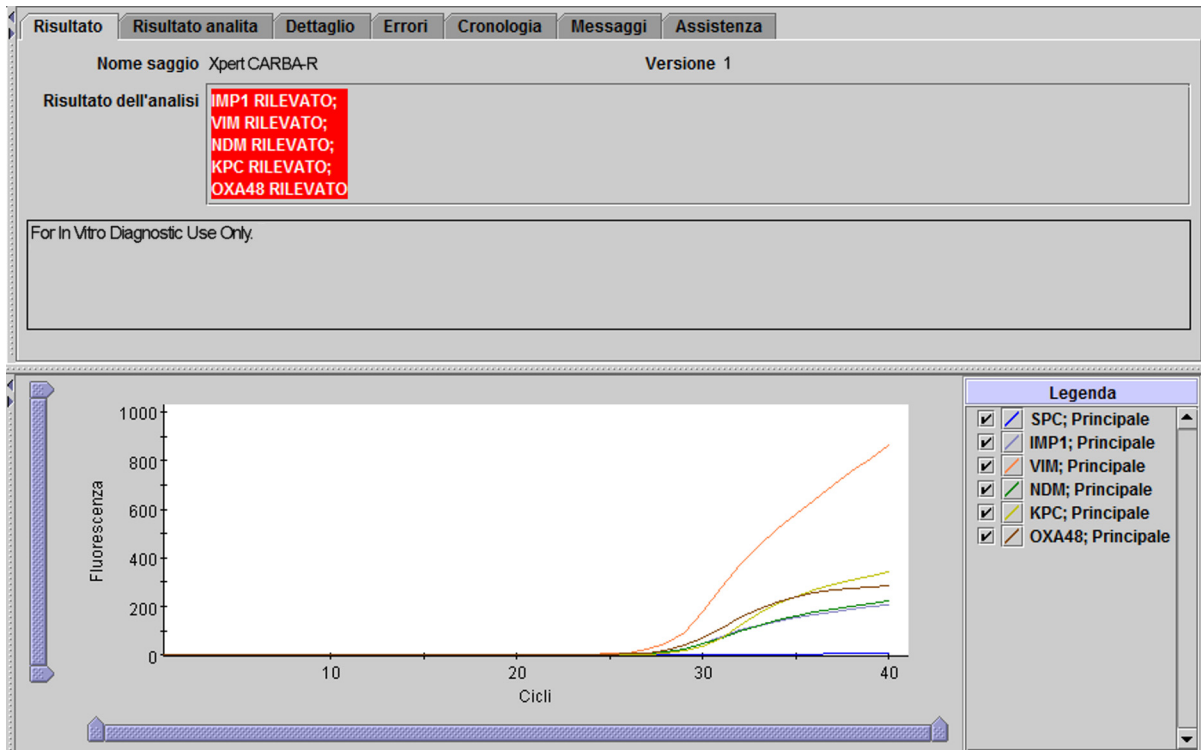


Figura 9. Carba-R Assay – IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 rilevati

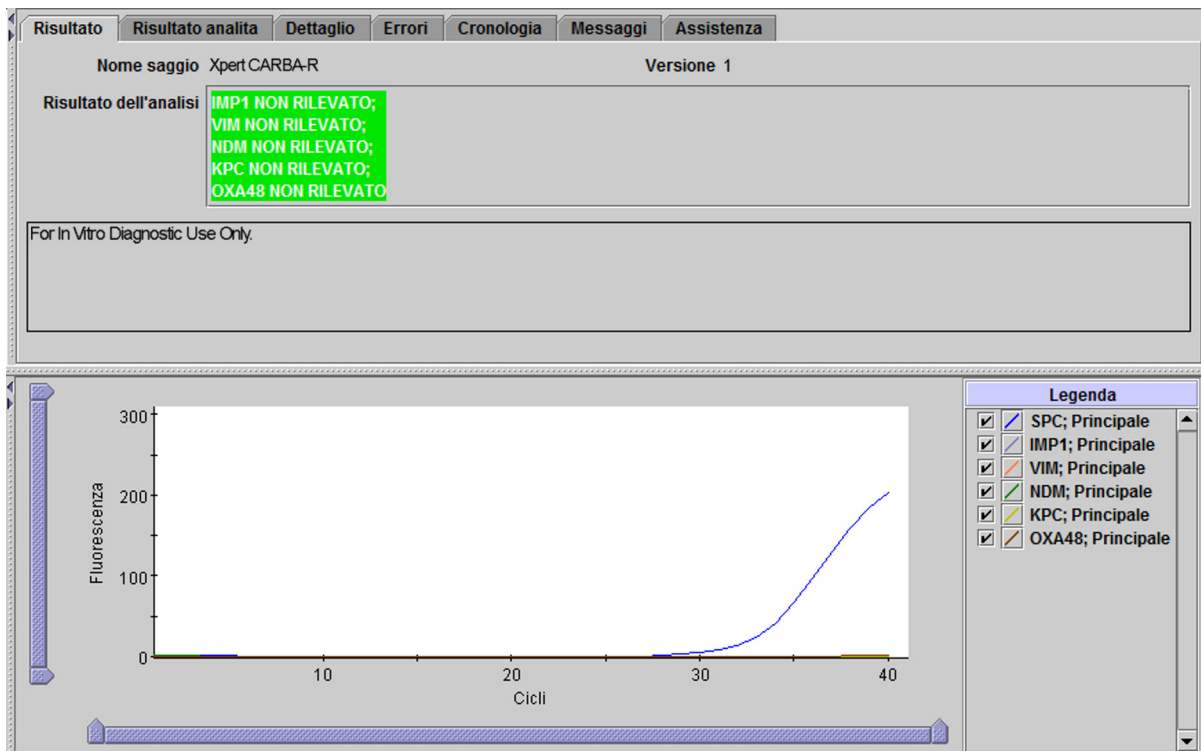


Figura 10. Carba-R Assay – IMP-1, VIM, NDM, KPC e OXA-48 non rilevati

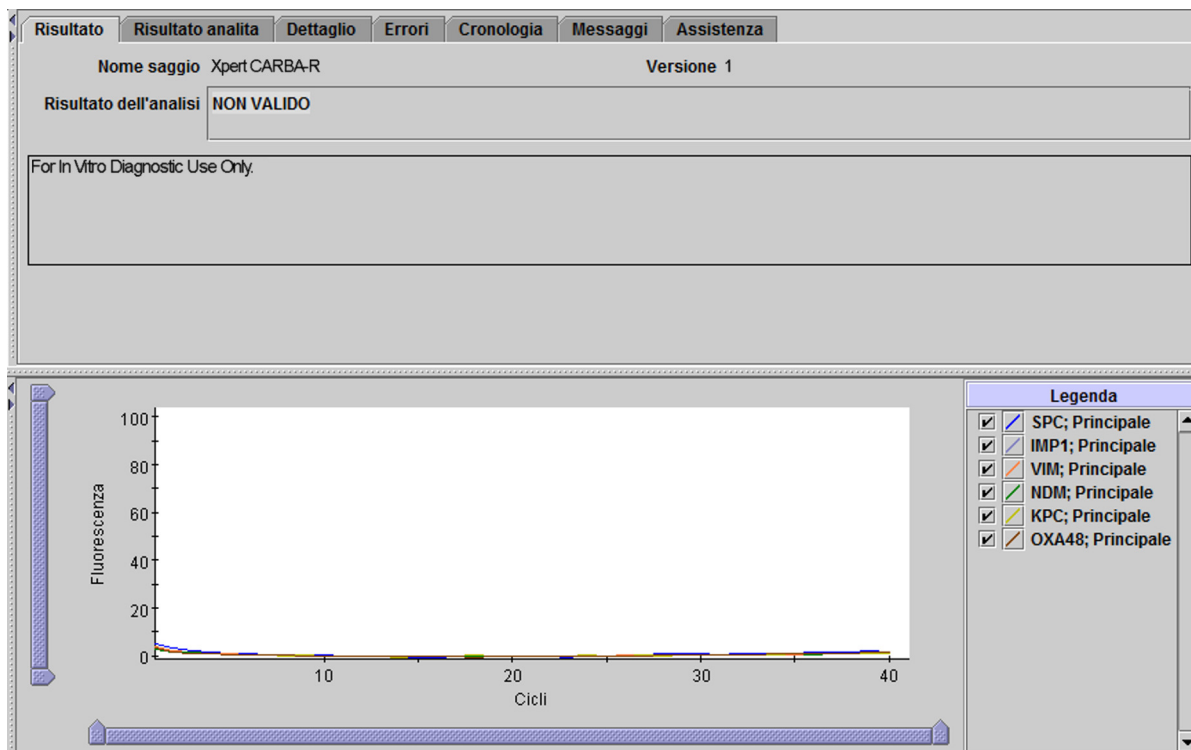


Figura 11. Carba-R Assay – Non valido

12 Motivi per ripetere il test

Ripetere il test con una nuova cartuccia (non riutilizzare la cartuccia) e un nuovo flaconcino di reagente per la diluizione del campione.

- Un risultato **NON VALIDO** indica che il controllo SPC non è valido. Il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita, oppure il volume del campione aggiunto era insufficiente.
- Il risultato **ERRORE** indica che il controllo per la verifica della sonda non ha avuto esito positivo e il saggio è stato interrotto, probabilmente a causa del riempimento inadeguato della provetta di reazione, dell'individuazione di un problema a livello di integrità della sonda, del superamento dei limiti massimi di pressione o dell'individuazione di un errore di posizionamento della valvola.
- **NESSUN RISULTATO** indica che i dati raccolti sono insufficienti. Per esempio, l'operatore ha interrotto un'analisi mentre era in corso oppure si è verificata un'interruzione di corrente.
- Se il controllo qualità esterno non sortisce l'esito desiderato, ripetere il test di controllo esterno e/o contattare Cepheid per ricevere assistenza.

13 Procedura di ripetizione del test

1. Estrarre dal kit una nuova cartuccia e un nuovo flaconcino di reagente per il campione.
2. Trasferire il liquido residuo dal flaconcino originale di reagente per il campione (che contiene il tampone rettale, agitato su vortex e conservato tra 2 °C e 28 °C; vedere la Sezione 9.1) nel nuovo flaconcino di reagente per il campione.
3. Chiudere il tappo del flaconcino di reagente per il campione e miscelare su vortex ad alta velocità per 10 secondi.
4. Procedere alle fasi analitiche successive a partire dal passaggio 6 della Sezione 9.1, Preparazione della cartuccia.

14 Limitazioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Si consiglia di adottare le buone pratiche di laboratorio, tra cui cambiarsi i guanti durante la manipolazione dei campioni di analisi dei pazienti, nel passaggio da un campione all'altro, al fine di evitare la contaminazione di tali campioni o dei reagenti.
- Si possono ottenere risultati del test erronei come conseguenza di una raccolta dei campioni di analisi inadeguata, della mancata osservanza delle procedure consigliate per la raccolta, la manipolazione e la conservazione dei campioni, di errori tecnici, di commistione dei campioni o a causa di una presenza di organismi nel campione di analisi troppo esigua per essere rilevata dal test. La stretta osservanza delle istruzioni del presente foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erronei.
- Poiché il rilevamento delle sequenze geniche *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e *bla*_{IMP-1} dipende dal numero di organismi presenti all'interno del campione, l'affidabilità dei risultati dipende dall'adeguatezza del prelievo, della manipolazione e della conservazione dei campioni di analisi.
- Un risultato positivo del test non indica necessariamente la presenza di organismi vitali.
- L'analisi con il saggio Xpert Carba-R Assay deve essere utilizzata in aggiunta agli altri metodi disponibili.
- Le mutazioni o i polimorfismi nelle regioni che si legano alle sonde o ai primer possono influenzare il rilevamento delle varianti nuove o sconosciute delle sequenze *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e *bla*_{IMP-1} e di conseguenza determinare un risultato falso negativo.
- In una coltura mista contenente organismi con più di una delle cinque sequenze geniche bersaglio, il LoD del saggio può variare, soprattutto quando è presente una concentrazione estremamente elevata di una o più delle cinque sequenze geniche.
- Come per tutti i test diagnostici *in vitro* basati sulla PCR, possono essere rilevati livelli estremamente bassi delle sequenze bersaglio, inferiori al LoD, ma i risultati potrebbero non essere riproducibili.
- Talvolta il risultato del saggio Xpert Carba-R Assay può essere **NON VALIDO** a causa del mancato superamento del controllo SPC, oppure **ERRORE** o **NESSUN RISULTATO** e richiedere la ripetizione del test con conseguenti ritardi nell'ottenimento dei risultati finali.

15 Caratteristiche prestazionali

Le caratteristiche prestazionali del saggio Xpert Carba-R Assay sono state valutate nel contesto di uno studio prospettico multicentrico condotto presso due istituti statunitensi e due istituti europei (UE). Data la bassa prevalenza di organismi contenenti geni resistenti ai carbapenemi in assenza di un'epidemia, e la difficoltà di ottenere campioni freschi contenenti organismi non suscettibili ai carbapenemi, i campioni prospettici raccolti per questo studio sono stati integrati con campioni creati appositamente (isolati ben caratterizzati addizionati in una matrice di tamponi rettali negativi).

I soggetti dello studio hanno incluso individui il cui trattamento di routine includeva la raccolta di tamponi rettali per lo screening per gli organismi resistenti ai carbapenemi o individui che hanno fornito il consenso informato. Per raccogliere campioni rettali dai soggetti idonei è stato usato un set di due tamponi. Uno dei tamponi del set è stato usato per la coltura di riferimento e l'analisi della suscettibilità; l'altro tampone è stato usato per l'analisi con il saggio Xpert Carba-R Assay. Il DNA di tutti gli isolati non suscettibili ai carbapenemi è stato estratto e inviato a un laboratorio indipendente al fine di identificare la sequenza del DNA. La gestione dei pazienti è continuata nel centro sanitario di appartenenza secondo la prassi standard.

L'analisi della suscettibilità è stata condotta in conformità con i documenti M2-A11, M7-A9 e M100-S23 del CLSI.^{13,14,15} Nel test di diffusione su disco sono stati utilizzati dischetti di meropenem per rilevare la resistenza ai carbapenemi.

I risultati del saggio Xpert-Carba-R Assay sono stati confrontati alla coltura di riferimento e al sequenziamento degli isolati non suscettibili ai carbapenemi confermati da coltura.

Un totale di 633 campioni sono stati analizzati con il saggio Xpert Carba-R Assay per rilevare le sequenze bersaglio dei geni resistenti ai carbapenemi (*bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} e *bla*_{IMP-1}) e con il metodo di riferimento. In relazione al metodo di riferimento, il saggio Xpert Carba-R Assay ha dimostrato una sensibilità e specificità complessive rispettivamente del 96,6% (95% IC: 92,2–98,9) e del 98,6% (95% IC: 97,1–99,4) (Tabella 2) sul set combinato dei campioni creati appositamente e prospettici. I risultati del saggio Xpert Carba-R Assay sono stati definiti come positivi se era stata rilevata una o più delle cinque sequenze bersaglio, e negativi se non era stata rilevata nessuna sequenza bersaglio.

Tabella 2. Prestazioni generali del saggio Xpert Carba-R Assay rispetto alla coltura di riferimento + sequenziamento

	Coltura + Sequenziamento			
		Pos	Neg	Totale
Xpert Carba-R	Pos	142	7	149
	Neg	5	479	484
	Totale	147	486	633
		Sensibilità: 96,6% (95% IC: 92,2–98,9) Specificità: 98,6% (95% IC: 97,1–99,4)		

La Tabella 3 mostra le stime relative a valore predittivo positivo (PPV), valore predittivo negativo (NPV) e accuratezza del saggio Xpert Carba-R Assay come funzione della prevalenza.

Tabella 3. Stime PPV, NPV e di accuratezza complessive del saggio Xpert Carba-R Assay come funzione della prevalenza

Prevalenza	PPV	NPV	Accuratezza
0,00%	0,00%	100,00%	98,56%
10,00%	88,17%	99,62%	98,36%
20,00%	94,37%	99,14%	98,17%
30,00%	96,64%	98,54%	97,97%
40,00%	97,81%	97,75%	97,78%
50,00%	98,53%	96,66%	97,58%
60,00%	99,02%	95,08%	97,38%
70,00%	99,37%	92,55%	97,19%
80,00%	99,63%	87,87%	96,99%
90,00%	99,83%	76,30%	96,79%
100,00%	100,00%	0,00%	96,60%

La Tabella 4 mostra una classificazione dei risultati del saggio Xpert Carba-R Assay per singolo bersaglio per tutti i campioni. C'erano in totale 633 campioni, ciascuno con risultati per cinque singoli bersagli, per un totale di 3165 risultati.

Tabella 4. Tabella di tutti i risultati del saggio Xpert Carba-R Assay suddivisi per singolo bersaglio

	Coltura + Sequenziamento						NEG	Totale
	IMP-1+	VIM+	NDM+	KPC+	OXA-48+			
Xpert Carba-R	IMP-1+	26	0	0	0	0	0	26
	VIM+	0	29	0	0	0	1	30
	NDM+	0	0	26	0	0	1	27
	KPC+	0	0	0	29	0	4	33
	OXA-48+	0	0	0	0	38	1	39
	NEG	1	2	0	1	2	3004 ^a	3010
	Totale	27	31	26	30	40	3011	3165

a. Le coppie negative (3004 in totale) sono state scomposte nel modo seguente: 606 entrambi i test IMP-1 e NEG; 601 entrambi i test VIM e NEG; 606 entrambi i test NDM e NEG; 599 entrambi i test KPC e NEG; 592 entrambi i test OXA-48 e NEG.

In relazione al metodo di riferimento, il saggio Xpert Carba-R Assay ha dimostrato una sensibilità e specificità per il bersaglio IMP-1 rispettivamente del 96,3% e del 100%. Vedere la Tabella 5.

Tabella 5. Prestazioni del saggio Xpert Carba-R Assay – IMP-1

		Coltura + Sequenziamento		
		Pos	Neg	Totale
Xpert Carba-R	Pos	26	0	26
	Neg	1	606	607
	Totale	27	606	633
		Sensibilità: 96,3% (95% IC: 81,0–99,9) Specificità: 100% (95% IC: 99,4–100)		

In relazione al metodo di riferimento, il saggio Xpert Carba-R Assay ha dimostrato una sensibilità e specificità per il bersaglio VIM rispettivamente del 93,5% e del 99,8%. Vedere la Tabella 6.

Tabella 6. Prestazioni del saggio Xpert Carba-R Assay – VIM

		Coltura + Sequenziamento		
		Pos	Neg	Totale
Xpert Carba-R	Pos	29	1	30
	Neg	2	601	603
	Totale	31	602	633
		Sensibilità: 93,5% (95% IC: 78,6–99,2) Specificità: 99,8% (95% IC: 99,1–100)		

In relazione al metodo di riferimento, il saggio Xpert Carba-R Assay ha dimostrato una sensibilità e specificità per il bersaglio NDM rispettivamente del 100% e del 99,8%. Vedere la Tabella 7.

Tabella 7. Prestazioni del saggio Xpert Carba-R Assay – NDM

		Coltura + Sequenziamento		
		Pos	Neg	Totale
Xpert Carba-R	Pos	26	1	27
	Neg	0	606	606
	Totale	26	607	633
		Sensibilità: 100% (95% IC: 86,8–100) Specificità: 99,8% (95% IC: 99,1–100)		

In relazione al metodo di riferimento, il saggio Xpert Carba-R Assay ha dimostrato una sensibilità e specificità per il bersaglio KPC rispettivamente del 96,7% e del 99,3%. Vedere la Tabella 8.

Tabella 8. Prestazioni del saggio Xpert Carba-R Assay – KPC

		Coltura + Sequenziamento		
		Pos	Neg	Totale
Xpert Carba-R	Pos	29	4	33
	Neg	1	599	600
	Totale	30	603	633
		Sensibilità: 96,7% (95% IC: 82,8–99,9) Specificità: 99,3% (95% IC: 98,3–99,8)		

In relazione al metodo di riferimento, il saggio Xpert Carba-R Assay ha dimostrato una sensibilità e specificità per il bersaglio OXA-48 rispettivamente del 95,0% e del 99,8%. Vedere la Tabella 9.

Tabella 9. Prestazioni del saggio Xpert Carba-R Assay – OXA-48

Xpert Carba-R	Coltura + Sequenziamento			Totale
		Pos	Neg	
	Pos	38	1	39
	Neg	2	592	594
	Totale	40	593	633
Sensibilità: 95,0% (95% IC: 83,1–99,4) Specificità: 99,8% (95% IC: 99,1–100)				

16 Prestazioni analitiche

16.1 Sensibilità analitica (limite di rilevamento)

Sono stati eseguiti studi volti a determinare il limite di rilevamento (LoD) analitico del saggio Xpert Carba-R Assay con organismi produttori di carbapenemasi seminati in matrice di tamponi rettali negativi naturali umani combinati in pool. Il LoD è stato determinato per due batteri produttori di carbapenemasi per ciascun analita genico, vale a dire i geni codificanti KPC, NDM, VIM, OXA-48 e IMP-1. I batteri sono stati titolati in base ai conteggi su piastra e diluiti in matrice di tamponi rettali negativi combinati in pool. Replicati di 20 sono stati valutati a un minimo di sei concentrazioni differenti e i LoD sono stati stimati mediante analisi probit. Per questo studio, il LoD stimato è definito come la concentrazione più bassa di cellule del bersaglio che possono essere distinte in modo riproducibile dai campioni negativi con una confidenza del 95%. Lo studio è stato eseguito con due lotti differenti di reagenti Xpert Carba-R e l'LoD dichiarato è quello più alto fra le due determinazioni. I LoD stimati sono stati verificati preparando e analizzando 10 replicati da due diluizioni indipendenti di ciascun batterio a ciascun LoD stimato.

In tutti i casi, l'IC a una coda superiore di livello 95% della proporzione che era positiva era maggiore del 95%, vale a dire $\geq 19/20$.

Il valore LoD dichiarato per ciascuna coppia di organismi produttori di carbapenemasi è illustrato nella Tabella 10.

Tabella 10. LoD per organismi produttori di carbapenemasi

Organismo	ID ceppo	LoD (CFU/tampone)
KPC <i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13438	348
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	C8823	750
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC BAA-2146	246
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	C8658	306
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	OM22	213
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	501	451
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	695	1165
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMPBMI	258
VIM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	C8667	274
VIM <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	C10107	118

16.2 Reattività analitica (inclusività)

La sensibilità analitica del saggio Xpert Carba-R Assay è stata valutata analizzando un pannello di 60 campioni composti da 20 ceppi batterici ben caratterizzati per il bersaglio *bla*_{OXA-48} (che include le varianti *bla*_{OXA-181/232}) e da 10 ceppi batterici ben caratterizzati per ciascuno degli altri quattro bersagli Carba-R. Vedere la Tabella 11. Gli organismi sono stati analizzati in triplicato in matrice di tamponi rettali negativi combinati in pool. Tutti gli organismi sono stati analizzati vicino al limite di rilevamento (LoD) analitico e le concentrazioni sono state confermate mediante coltura in triplicato su piastra su terreni non selettivi e determinando le conte vitali. In base alle condizioni di questo studio, tutti i 60 ceppi batterici sono stati rilevati con il saggio Xpert Carba-R Assay. L'inclusività è stata pari al 100%.

Tabella 11. Elenco degli organismi produttori di carbapenemasi e concentrazioni (CFU/ml) analizzati con il saggio Xpert Carba-R Assay

Organismo	ID ceppo	Caratteristiche e confermate	Concentrazione del test (CFU/ml)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13438	KPC-3	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31551	KPC-4	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC BAA-1705	KPC	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	COL	KPC-2	100
<i>Enterobacter aerogenes</i>	KBM18	KPC-2	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	BM9	KPC-3	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA3	KPC-2	100
<i>Serratia marcescens</i>	CGNC	KPC-2	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	CFVL	KPC-2	100
<i>Escherichia coli</i>	COL	KPC-2	100
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 13476	IMP	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	695	IMP-1	450
<i>Enterobacter cloacae</i>	2340	IMP-1	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMPBMI	IMP	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Yonsei_1	IMP	500
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Yonsei_2	IMP	500
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6852	IMP-1	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MKAM	IMP-1	200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	70450-1	IMP	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3994	IMP-10	200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 13437	VIM-10	400
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13439	VIM-1	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13440	VIM-1	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	758	VIM	400
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	PA_87	VIM	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B92A	VIM	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Col1	VIM-2	400
<i>Serratia marcescens</i>	BM19	VIM-2	100
<i>Escherichia coli</i>	KOW7	VIM-4	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DIH	VIM-19	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13443	NDM-1	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC BAA-2146	NDM-1	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34262	NDM	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	AB-GEN	NDM-1	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	3047	NDM-1	100
<i>Proteus mirabilis</i>	7892	NDM-1	100
<i>Salmonella spp.</i>	CAN	NDM-1	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	EGY	NDM-2	100

Tabella 11. Elenco degli organismi produttori di carbapenemasi e concentrazioni (CFU/ml) analizzati con il saggio Xpert Carba-R Assay (continua)

Organismo	ID ceppo	Caratteristiche e confermate	Concentrazione del test (CFU/ml)
<i>Escherichia coli</i>	I5	NDM-4	100
<i>Escherichia coli</i>	405	NDM-5	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13442	OXA-48	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OM11	OXA-48	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	501	OXA-48	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DUW	OXA-48	100
<i>Escherichia coli</i>	OM22	OXA-48	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	BOU	OXA-48	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	TUR	OXA-48	100
<i>Escherichia coli</i>	11670	OXA-48	100
<i>Escherichia coli</i>	AME	OXA-48	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11978	OXA-48	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	166643	OXA-181	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	42194	OXA-181	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-6	OXA-181	150
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-44	OXA-181	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-64	OXA-181	150
<i>Escherichia coli</i>	MSH2014-72	OXA-181	100
<i>Escherichia coli</i>	MSH2014-73	OXA-181	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-18	OXA-232	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-51	OXA-232	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-75	OXA-232	50

16.3 Reattività crociata analitica (esclusività)

La specificità analitica del saggio Xpert Carba-R Assay è stata valutata analizzando un pannello di 54 campioni comprendenti 22 ceppi batterici ben caratterizzati con profili di resistenza correlati (vedere la Tabella 12), 28 ceppi batterici ben caratterizzati rappresentanti patogeni comuni o non patogeni potenzialmente incontrati nel tratto gastrointestinale (vedere la Tabella 13), tre organismi virali rappresentanti virus potenzialmente presenti nel tratto gastrointestinale (vedere la Tabella 13) e una linea cellulare di carcinoma della vescica a rappresentare DNA genomico umano (vedere la Tabella 14).

Tutti i ceppi batterici erano coltivati e titolati. I ceppi sono stati analizzati a concentrazioni $\geq 10^5$ CFU/ml. Adenovirus ed enterovirus sono stati analizzati a concentrazioni $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml; il norovirus è stato analizzato come un campione clinico positivo al norovirus a una concentrazione di $2,5 \times 10^7$ copie di RNA/ml. La linea cellulare della vescica (DNA genomico umano) è stata analizzata a 1×10^5 cellule/ml. Gli organismi sono stati diluiti in una matrice di tamponi rettali negativi combinati in pool e analizzati in triplicato. Il saggio Xpert Carba-R Assay non ha rilevato alcuno dei 54 organismi con potenziale reattività crociata e degli acidi nucleici analizzati. Nello studio sono stati inclusi controlli positivi e negativi. La specificità analitica è stata del 100%.

Tabella 12. Elenco di organismi con resistenza correlata

Nome organismo	Beta-lattamasi presenti	Concentrazione del test (CFU/ml)
<i>Escherichia coli</i>	CTX-M (15)	$5,0 \times 10^7$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M (25)	$7,5 \times 10^7$
<i>Enterobacter cloacae</i>	Carenza di OmpC/OmpF	$9,9 \times 10^7$
<i>Citrobacter freundii</i>	TEM (WT+164S)	$7,3 \times 10^7$
<i>Enterobacter cloacae</i>	AmpC (ACT/MIR)	$4,9 \times 10^7$
<i>Escherichia coli</i>	CTX-M (2); TEM; OXA-2	$1,3 \times 10^7$
<i>Enterobacter cloacae</i>	CTX-M (2); TEM	$9,5 \times 10^7$
<i>Serratia marcescens</i>	CTX-M (2); TEM	$2,2 \times 10^7$
<i>Morganella morganii</i>	CTX-M (2); TEM	$9,3 \times 10^7$
<i>Proteus mirabilis</i>	CTX-M (2); TEM	$8,2 \times 10^7$
<i>Salmonella spp.</i>	CTX-M (U)	$7,8 \times 10^7$
<i>Shigella flexnerii</i>	CTX-M (2); TEM	$3,8 \times 10^7$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV	$4,1 \times 10^7$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13; CTX-M; SHV-1	$8,8 \times 10^7$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M (15); SHV-11; TEM-1	$3,8 \times 10^7$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M (15); SHV	$5,3 \times 10^7$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV-27	$8,3 \times 10^7$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV (-5, -55); TEM	$5,8 \times 10^7$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M (15); SHV; TEM	$6,4 \times 10^7$
<i>Enterobacter aerogenes</i>	SHV (WT+238S+240K)	$6,5 \times 10^7$
<i>Enterobacter aerogenes</i>	SHV (WT+238S+240K)	$9,0 \times 10^7$
<i>Escherichia coli</i>	AmpC (CMY II); TEM	$8,0 \times 10^8$

Tabella 13. Elenco dei microorganismi commensali e di altri microorganismi enterici

Nome organismo	Fonte	Concentrazione del test (CFU/ml)
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	$6,1 \times 10^7$
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	$2,0 \times 10^7$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	$6,0 \times 10^7$
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35218	$9,8 \times 10^7$
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	$1,3 \times 10^8$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	$2,9 \times 10^7$
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 700621	$5,2 \times 10^7$
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	$6,8 \times 10^7$
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC 13182	$8,0 \times 10^7$
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC BAA-747	$2,2 \times 10^7$
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	$9,4 \times 10^7$
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	$1,2 \times 10^7$
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	ATCC 51331	$4,9 \times 10^7$
<i>Citrobacter koseri</i>	ATCC 27028	$> 1,5 \times 10^8$
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	$5,3 \times 10^7$
<i>Streptococcus agalactiae</i>	CCUG 29780/ATCC 12401	$3,1 \times 10^7$
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 51697	$7,8 \times 10^7$
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	$3,4 \times 10^7$
<i>Acinetobacter spp.</i>	CCUG 34787	$1,6 \times 10^7$
<i>Bifidobacterium adolescent</i>	CCUG 24604	$2,3 \times 10^7$
<i>Campylobacter jejuni</i>	CCUG 43594/ATCC 33560	$1,5 \times 10^6$
<i>Citrobacter freundii</i>	CCUG 418	$> 1,5 \times 10^8$
<i>Clostridium difficile (non tossigenico)</i>	ATCC 700057	$4,5 \times 10^7$
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	CCUG 33629	$4,0 \times 10^7$
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 17874	$1,3 \times 10^7$
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 33548	$> 1,5 \times 10^8$
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	CCUG 7835	$5,0 \times 10^5$
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	$7,8 \times 10^7$
<i>Adenovirus B tipo 7A/NY</i>	MRVP/Zeptomatrix	$1,4 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml
<i>Enterovirus tipo 71/NY</i>	MRVP/Zeptomatrix	$4,4 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml
<i>Norovirus GI</i>	Campione clinico—Cepheid Solna	$2,5 \times 10^7$ copie di RNA/ml

Tabella 14. Linea cellulare rappresentante DNA genomico umano

Nome organismo	Fonte	Concentrazioni del test (cellule/ml)
Carcinoma delle cellule della vescica (hgDNA)	ATCC HTB-4	$1,0 \times 10^5$

16.4 Sostanze potenzialmente interferenti

In uno studio non clinico, 23 sostanze potenzialmente interferenti che possono essere presenti in tamponi rettali sono state valutate con il saggio Xpert Carba-R Assay. Sono state preparate e analizzate soluzioni di sostanze potenzialmente interferenti a concentrazioni specificate nella Tabella 15. Per ogni sostanza sono stati analizzati otto campioni replicati negativi per determinare l'effetto sulle prestazioni del controllo di elaborazione del campione (SPC).

Per determinare se la presenza delle sostanze potenzialmente interferenti ha causato risultati falsi negativi, per ogni sostanza sono stati analizzati otto campioni replicati positivi. I campioni positivi erano costituiti da una miscela di cinque organismi produttori di carbapenemasi a concentrazioni di 2–4x il LoD analitico precedentemente determinato per ciascun organismo. Per l'analisi, le sostanze e gli organismi sono stati diluiti nel reagente per il campione.

L'effetto di ciascuna sostanza potenzialmente interferente sui replicati positivi e negativi è stato valutato confrontando i valori del ciclo soglia (Ct) del bersaglio generati in presenza della sostanza ai valori Ct ottenuti dai controlli in reagente per il campione che non contenevano la sostanza.

In presenza delle 23 sostanze potenzialmente interferenti, non è stato osservato alcun risultato non valido causato da inibizione dell'SPC nei campioni negativi. Delle 23 sostanze potenzialmente inibitrici analizzate, Pepto-Bismol (subsalicilato di bismuto) 0,25% p/v ha avuto un effetto inibitore statisticamente significativo sul rilevamento dell'IMP-1 con il saggio Xpert Carba-R Assay. Non sono stati osservati altri effetti inibitori statisticamente significativi.

Tabella 15. Sostanze potenzialmente interferenti analizzate

Sostanza/Classe	Principio attivo	Concentrazione analizzata
Farmaco antinfiammatorio non steroideo	Naproxene	0,25% p/v
Composto per esami diagnostici per immagini	Solfato di bario	0,25% p/v
Antibiotico (orale)	Cephalexina	0,25% p/v
	Ciprofloxacina	0,25% p/v
Antibiotico (topico)	Polimixina B/Neomicina/Bacitracina	0,25% p/v
Crema/unguento/supposte	Idrocortisone	0,25% p/v
Lassativo	Sennosidi	0,25% p/v
Clisteri	Olio minerale	0,25% p/v
Farmaci anti-diarrea	Loperamide cloridrato	0,25% p/v
	Subsalicilato di bismuto (2)	0,25% p/v
Unguento topico	Clorexidina gluconato e metil idrossibenzoato	0,25% p/v
	Petrolato	0,25% p/v
Antiacidi	Carbonato di calcio/idrossido di alluminio/idrossido di magnesio/simeticone	0,25% p/v
	Cimetidina	0,25% p/v
	Famotidina	0,25% p/v
Riduttore dell'acidità di stomaco; antiacido	Omeprazolo	0,25% p/v
Vaginale antimicotica/antiprurito	Nistatina	0,25% p/v
	Benzocaina, resorcinolo	0,25% p/v
Crema/unguenti contro le emorroidi	Fenilefrina	0,25% p/v
Clisteri	Soluzione fisiologica	0,25% p/v
Preservativo con lubrificante spermicida	Nonoxynol-9	1 preservativo ^a
Salviettine antisettiche	Benzalconio cloruro etanolo	1 salviettina ^b

a. Un preservativo aggiunto a 40 ml di reagente per il campione.

b. Una salviettina 12,7 cm x 19 cm aggiunta a 40 ml di reagente per il campione.

16.5 Studio sulla contaminazione da carry-over

È stato condotto uno studio per dimostrare che le cartucce chiuse monouso GeneXpert impediscono la contaminazione da carry-over nei campioni negativi. Lo studio consisteva nel trattamento di un campione negativo all'interno dello stesso modulo GeneXpert subito dopo un campione positivo con valori molto elevati. Il campione positivo con valori molto elevati è composto di cellule inattivate di E. coli contenenti un plasmide con un inserto costituito da un oligonucleotide sintetico delle sequenze di ampliconi dai geni dei cinque analiti bersaglio Xpert Carba-R. Le cellule positive sono state diluite in una matrice di tamponi rettali negativi combinati in pool a una concentrazione di 1×10^6 CFU/ml. Lo schema di analisi è stato ripetuto 20 volte su due moduli GeneXpert per un totale di 102 analisi (25 campioni positivi con valori molto elevati per modulo e 26 campioni negativi per modulo). Tutti i 50 campioni positivi hanno riportato correttamente tutti i bersagli Xpert Carba-R come **RILEVATI**. Tutti i 52 campioni negativi hanno riportato correttamente tutti i bersagli Xpert Carba-R come **NON RILEVATI**.

16.6 Riproducibilità del saggio

La riproducibilità del saggio Xpert Carba-R Assay è stata valutata in uno studio multicentrico della durata di cinque giorni in cui due operatori in tre centri distinti hanno analizzato in cieco un pannello di precisione composto da 11 componenti. Ciascun componente del pannello è stato analizzato in replicati di tre per un totale di 90 replicati per componente del pannello. Tale pannello era composto da isolati ben caratterizzati addizionati in una matrice di tamponi rettali negativi. I dati sono riassunti in base al bersaglio del saggio. Vedere la Tabella 16 e la Tabella 17.

Tabella 16. Sommario dei risultati di riproducibilità – % concordanza per centro dello studio/operatore

Campione	Centro 1		Centro 2		Centro 3		% concordanza totale per campione
	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
KPC basso pos	80,00% (12/15)	86,70% (13/15)	80,00% (12/15)	93,30% (14/15)	86,70% (13/15)	93,30% (14/15)	86,7% (78/90)
KPC mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
VIM basso pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	93,30% (14/15)	86,70% (13/15)	96,7% (87/90)
VIM mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
NDM basso pos	100% (15/15)	100% (15/15)	73,30% (11/15)	86,70% (13/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	93,3% (84/90)
NDM mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
OXA-48 basso pos	100% (15/15)	86,70% (13/15)	80,00% (12/15)	86,70% (13/15)	93,30% (14/15)	86,70% (13/15)	88,9% (80/90)
OXA-48 mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
IMP-1 basso pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	86,70% (13/15)	86,70% (13/15)	100% (15/15)	95,6% (86/90)
IMP-1 mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
Neg	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)

Tabella 17. Sommario dei dati di riproducibilità^a

Campione	Canale del saggio (analita)	N ^b	Ct medio	Tra centri		Tra giorni		Tra operatori		All'interno del saggio		Totale	
				DS ^c	CV ^d (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
KPC basso pos	KPC	84	36,1	0,13	0,4	0	0	0,08	0,2	1,14	3,2	1,15	3,2
KPC mod pos	KPC	90	34,0	0	0	0,21	0,6	0,15	0,4	0,53	1,6	0,59	1,7
VIM basso pos	VIM	89	35,0	0,35	1	0	0	0,28	0,8	1,08	3,1	1,17	3,4
VIM mod pos	VIM	90	31,6	0,15	0,5	0	0	0,18	0,6	0,34	1,1	0,41	1,3
NDM basso pos	NDM	87	35,8	0,16	0,4	0,07	0,2	0,17	0,5	0,86	2,4	0,89	2,5
NDM mod pos	NDM	90	33,2	0	0	0,13	0,4	0	0	0,58	1,8	0,60	1,8
OXA-48 basso pos	OXA-48	87	36,6	0	0	0	0	0	0	0,99	2,7	0,99	2,7
OXA-48 mod pos	OXA-48	90	32,4	0,09	0,3	0	0	0	0	0,37	1,1	0,38	1,2
IMP-1 basso pos	IMP-1	89	36,1	0	0	0,13	0,4	0,29	0,8	0,89	2,5	0,95	2,6
IMP-1 mod pos	IMP-1	90	33,7	0,04	0,1	0,09	0,3	0,15	0,4	0,49	1,5	0,52	1,5
Neg	SPC	90	33	0	0	0	0	0,27	0,8	0,63	1,9	0,69	2,1

- La variabilità rispetto ad alcuni fattori può essere numericamente negativa, caso possibile se la variabilità dovuta a questi fattori è molto piccola. In questo caso, la variabilità misurata con DS e CV è impostata su 0.
- Risultati con valori Ct su 90 diversi da zero.
- DS = deviazione standard.
- CV = coefficiente di variazione.

17 Riferimenti bibliografici

1. Kallen AJ, et al. 2010. Current epidemiology of multidrug-resistant gram-negative bacilli in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 31 Suppl 1: S51–54.
2. Nordmann P, et al. Cornaglia. 2012. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a call for action! *Clin Microbiol Infect.* 18: 411–412.
3. Cornaglia G, et al. 2011. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis.* 11: 381–393.
4. Kitchel B, et al. 2009. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in the United States: Clonal expansion of MLST sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:3365–3370.
5. Schwaber MJ, et al. 2011. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis.* 52: 848–855.
6. Kumarasamy KK, et al. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 10: 597–602.
7. Cuzon G, et al. 2008. Plasmid-encoded carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase OXA-48 in an imipenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain from Belgium. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 3463–3464.
8. Nordmann P, et al. 2011. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 17: 1791–1798.
9. Grundmann H, et al. 2010. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill.* 15.
10. Centers for Disease Control and Prevention. 2012. Guidance for Control of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE)—2012 CRE Tool kit. Edited by Department of Health and Human Services, <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-toolkit/index.html>.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
13. CLSI M100-S23. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-third informational supplement, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
14. CLSI M7-A9. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Ninth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
15. CLSI M2-A11. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Eleventh Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.

18 Ubicazione delle sedi centrali Cepheid

Sede centrale	Sede centrale europea
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089-1189 USA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont Francia
Telefono: +1 408.541.4191	Telefono: +33 563 825 300
Fax: +1 408.541.4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

19 Assistenza Tecnica

Prima di contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

- Nome del prodotto
- Numero di lotto
- Numero di serie dello strumento
- Messaggi di errore (se presenti)
- Versione del software e, se pertinente, codice riportato sul Service Tag (etichetta di servizio) del computer

Informazioni di contatto

Stati Uniti

Telefono: + 1 888 838 3222

E-mail: techsupport@cepheid.com



















Francia

Telefono: + 33 563 825 319

E-mail: support@cepheideurope.com

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Assistenza Tecnica di Cepheid sono disponibili nel sito:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport

20 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
	Produttore
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per <n> test
	Controllo
	Data di scadenza
	Marchio CE – Conformità europea
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Rappresentante autorizzato in Svizzera
	Importatore
	Limitazione della temperatura
	Rischi biologici
	Avvertenza



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Telefono: +1.408.541.4191
Fax: +1.408.541.4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francia
Telefono: +33 563 825 300
Fax: +33 563 825 301



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland

