

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Упатство за употреба

CE **IVD**

Заштитен знак, патенти и изјави за авторски права

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2019–2023 Cepheid.

Cepheid[®], логото на Cepheid, GeneXpert[®] и Xpert[®] се заштитни знаци на Cepheid, регистрирани во САД и други земји.

Сите други заштитни знаци се сопственост на нивните соодветни сопственици.

КУПУВАЊЕТО НА ОВОЈ ПРОИЗВОД МУ ПРЕНЕСУВА НА КУПУВАЧОТ НЕПРЕНОСЛИВО ПРАВО ДА ГО КОРИСТИ ВО СОГЛАСНОСТ СО ОВА УПАТСТВО ЗА УПОТРЕБА. НИКАКВИ ДРУГИ ПРАВА НЕ СЕ ПРЕНЕСУВААТ ИЗРЕЧНО, СО ПОДРАЗБИРАЊЕ ИЛИ СО СПРЕЧУВАЊЕ НА ТВРДЕЊАТА. ДОПОЛНИТЕЛНО, НЕ СЕ ДОДЕЛУВААТ НИКАКВИ ПРАВА НА ПРЕПРОДАЖБА СО КУПУВАЊЕТО НА ОВОЈ ПРОИЗВОД.

© 2019–2023 Cepheid.

Погледнете во Дел 30 Историја на ревизиите, за опис на промените.

Хpert® MRSA/SA SSTI

Само за користење во *ин vitro* дијагностика.

1 Заштитено име

Хpert® MRSA/SA SSTI

2 Вообичаено име

Хpert MRSA/SA SSTI

3 Предвидена употреба

Тестот за инфекција на кожата и мекото ткиво Cepheid Хpert® MRSA/SA (Хpert MRSA/SA SSTI test) направен во системот GeneХpert® Dx е квалитативен *ин vitro* дијагностички тест наменет за откривање *Staphylococcus aureus* (SA) и *Staphylococcus aureus* (MRSA) отпорна на метицилин од брисеви на инфекција на кожата и мекото ткиво. Тестот користи полимераза верижна реакција во реално време (PCR) за откривање ДНК на MRSA/SA. Тестот Хpert MRSA/SA SSTI е индициран за употреба заедно со други лабораториски тестови како што е микробиолошка култура и клинички податоци кои му се достапни на лекарот како помош во откривањето на MRSA/SA од инфекции на кожата и мекото ткиво. Тестот Хpert MRSA/SA SSTI не е предвиден за следење на лекувањето на инфекции со MRSA/SA. Придружните култури за SA и MRSA се неопходни за прибирање организми за тестирање за чувствителност или епидемиолошко типизирање.

4 Резиме и објаснување

Staphylococcus aureus (SA) е добро документиран човечки опортунистички патоген и главен болнички патоген што предизвикува широк опсег на болести. Некои од болестите вклучуваат инфекции на кожата и мекото ткиво, вклучувајќи чиреви и загносени чиреви и постоперативни инфекции на рани на различни места. Како болнички патоген, *S. aureus* е главна причина за морбидитет и морталитет. Инфекциите со *S. aureus* се често акутни и пиогени и, ако не се лекуваат, може да се прошират на околното ткиво или преку бактеремија на метастатски места (вклучувајќи други органи). Некои од посериозните инфекции предизвикани од *S. aureus* се бактеремија, пневмонија, остеомиелитис, акутен ендакардитис, синдром на токсичен шок, труење со храна, миокардитис, перикардитис, воспаление на мозокот, менингитис, хориоамнионитис, синдром на попарена кожа и апсцеси на мускулите, уrogenиталниот тракт, централниот нервен систем и различни интраабдоминални органи.¹

Во раните 1950-ти, стекнувањето и ширењето на плазмиди што произведуваат бета-лактамаза ја спречи ефикасноста на пеницилинот за лекување инфекции со *S. aureus*. Во 1959 година беше претставен метицилинот, синтетички пеницилин. Меѓутоа, до 1960 година беа идентификувани соеви на *S. aureus* отпорни на метицилин. Се утврди дека тоа е резултат на тоа што *S. aureus* го стекнал генот *mecA*. Во САД денеска, MRSA е одговорна за приближно 25 % од болничките инфекции, а пријавите за MRSA стекната во заедниците се зголемуваат, што доведува до значителен морбидитет и морталитет. Пријавени се приписливи морталитети од 33 % и 16 % за MRSA и бактеремија на *S. aureus* (SA) чувствителни на метицилин, соодветно. Исто така, постојат проблеми со зголемени трошоци за инфекциите со MRSA. Во обидите да се ограничи ширењето на овие инфекции, во болничките средини се развиваат и спроведуваат контролни стратегии и политики. Контролирањето на MRSA е главен фокус на повеќето програми за контрола на болнички инфекции. Во моментот, стандардниот метод за откривање MRSA и SA е култура, што бара многу труд и може да требаат неколку денови за да се генерира дефинитивен резултат.^{2,3,4,5,6,7}

5 Принцип на процедурата

Системите GeneXpert автоматизираат и интегрираат прочистувањето на примерокот, засилувањето на нуклеинската киселина и откривањето на целната секвенца кај едноставни или сложени примероци со користење анализи PCR во реално време. Системите состојат од инструмент, персонален компјутер и вчитан софтвер за извршување на тестовите и преглед на резултатите. За системите да се користат патрони за еднократна употреба кои имаат реагенси за PCR и се носители на процесот PCR. Бидејќи патроните се затворени, вкргстената контаминација меѓу примероците е сведена на минимум. За целосен опис на системите, видете го соодветното *Упатство за употреба на системот GeneXpert Dx* или *Упатство за употреба на системот GeneXpert Infinity*.

Тестот Xpert MRSA/SA SSTI вклучува реагенси за откривање MRSA и SA како и контрола за обработка на примерокот (SPC) за контролирање на соодветната обработка на целните бактерии и за следење на присуството на инхибитор(и) во реакцијата PCR. Исто така, SPC гарантира дека условите на реакцијата PCR (температура и време) се соодветни за реакцијата на засилување и дека реагенсите за PCR се функционални. Контролата за проверка на сондата (PCC) ја потврдува рехидратацијата на реагенсите, полнењето на епруветата за PCR во патронот, интегритетот на сондата и стабилноста на бојата.

Прајмерите и сондите кај тестот Xpert MRSA/SA SSTI откриваат сопствени секвенци за стафилококниот протеин A (*spa*), генот за отпорност на метицилин (*mecA*) и стафилококниот касетен хромозом (*SCCmec*) вметнат во хромозомската локација *attB* на SA.

6 Реагенси и инструменти

6.1 Испорачан материјал

Комплетот Xpert MRSA/SA SSTI содржи доволно реагенси за обработка на 10 примероци или примероци за контрола на квалитетот. Комплетот го содржи следното:

Патрони Xpert MRSA/SA SSTI со интегрирани епрувети за реакција	10
<ul style="list-style-type: none"> • Зрно 1, зрно 2 и зрно 3 (лиофилизирани) 	1 по патрон
<ul style="list-style-type: none"> • Реагенс 1 	3,0 ml по патрон
<ul style="list-style-type: none"> • Реагенс 2 (натриум хидроксид) 	3,0 ml по патрон
Кеса со реагенс за елуација за Xpert MRSA/SA SSTI	10 x 2,0 ml по кеса
<ul style="list-style-type: none"> • Реагенс за елуација (гванидиниум тиоцијанат) 	
CD	1 по комплет
<ul style="list-style-type: none"> • Датотека за дефинирање на анализата (ADF) • Упатство за увезување на ADF во софтверот GX • Упатство за употреба (прилог во пакувањето) 	

Забелешка Безбедносните листови (SDS) се достапни на www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com во картичката **ПОДДРШКА (SUPPORT)**.

Забелешка Говедскиот серум албумин (BSA) во зрната во рамките на овој производ е произведен и изработен исклучително од говедска плазма со потекло од Соединетите Американски Држави. Животните не беа хранети со преживарски протеин или друг животински протеин; животните поминаа претсмртно и посмртно тестирање. Во текот на обработката, немаше мешање на материјалот со други животински материјали

6.2 Чување и постапување

- Чувајте ги патроните за тестирање Xpert MRSA/SA SSTI и реагенсите на 2 - 28 °C.
- Не користете ги реагенсите или патроните на кои им поминал рокот на траење.
- Не отворајте патрон сè додека не сте подготвени да го извршите тестирањето.
- Не користете реагенси што се заматиле или обезбоиле.

7 Потребни материјали кои не се испорачани

- Систем на инструменти (каталожкиот број се разликува во зависност од конфигурацијата): Инструмент GeneXpert, компјутер со лиценцирана верзија 4.3 на софтверот GeneXpert или понова, рачен читач на баркодери и упатство за употреба
- Печатач: Ако е потребен печатач, стапете во контакт со одделот за техничка поддршка на Cepheid за да се договорите за набавка на препорачан печатач.
- Уред за земање примероци Cepheid (900-0370) или еквивалентен уред Sorap
- Миксер за центрифугирање
- Пипети за пренос за еднократна употреба
- Стерилна газа


8 Достапни материјали коишто не се испорачани

KWIK-STIK™ од Microbiologics каталожки број 0158MRSA и каталожки број 0360SA како надворешни позитивни контроли и број 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* отпорна на метицилин) како надворешна негативна контрола.

9 Предупредувања и мерки за претпазливост

- Третирајте ги сите биолошки примероци, вклучувајќи ги и употребените патрони и реагенси, како способни за пренесување заразни агенси. Бидејќи честопати не може да се знае кој може да биде заразен, сите биолошки примероци треба да се третираат со стандардни мерки за претпазливост. Упатства за постапување со примероците се достапни во Центрите за контрола и спречување на болестите на САД⁸ и Институтот за клинички и лабораториски стандарди.⁹
- Во мешана култура што содржи MRSA/SA и други организми (на пр., Грам негативни микроорганизми, квасец), резултатите може да бидат лажно негативни или променливи во зависност од концентрацијата на присутната MRSA/SA, особено ако концентрацијата на MRSA/SA е блиску до границата на откривање на тестот.
- Следете ги безбедносните процедури на вашата институција за работењето со хемикалии и постапувањето со биолошки примероци.
- Тестот Xpert MRSA/SA SSTI може да открие ДНК на MRSA и/или SA од инактивни организми. Веројатноста да се појави ова се зголемува за пациенти на антибиотици.
- Тестот Xpert MRSA/SA SSTI не дава резултати од тестирање за антимикробна чувствителност. Потребно е дополнително време за култивирање и спроведување тестирање за чувствителност.
- Не заменувајте го реагенсот за тестот Xpert MRSA/SA SSTI со други реагенси.
- Не отворајте го капакот на патронот за тестирање Xpert MRSA/SA SSTI освен при додавање примерок и реагенс или при спроведување повторно тестирање.
- Не користете патрон што паднал или бил протресен откако сте го додале примерокот и реагенсот.
- Не употребувајте патрон што има оштетена спрувета за реакција.
- Секој патрон за тестирање за еднократна употреба Xpert MRSA/SA SSTI се користи за обработка на еден примерок. Не употребувајте ги потрошените патрони повторно.
- Биолошките примероци, уредите за пренос и употребените патрони треба да се сметаат како способни за пренесување заразни агенси за кои се потребни стандардни мерки за претпазливост. Следете ги процедурите за еколошки отпад на вашата институција за правилно фрлање на употребените патрони и неупотребените реагенси. Овие материјали може да покажат карактеристики на хемиски опасен отпад за којшто е потребна специфична државна или регионална процедура за фрлање. Ако државните или регионалните прописи не даваат јасни насоки за правилно фрлање, биолошките примероци и употребените патрони треба да се фрлат според упатствата на СЗО [Светска здравствена организација] за постапување со медицински отпад.
- Не отворајте го капакот на патронот сè додека не сте подготвени да го извршите тестирањето.

10 Хемиски опасности^{17,18}

- Пиктограм на опасности на глобално хармонизираниот систем на О: 
- Збор што дава знак: ПРЕДУПРЕДУВАЊЕ
- **Изјави за опасност на глобално хармонизираниот систем на ОН**
 - Штетно ако се проголта
 - Предизвикува иритација на кожата
 - Предизвикува сериозна иритација на очите
- **Изјави за мерки за претпазливост на глобално хармонизираниот систем на ОН**
 - **Превенција**
 - Темелно да се измие по ракувањето.
 - Да не се јаде, пие или пуши при користењето на овој производ.
 - Да се избегнува испуштање во околината.
 - Да се носат заштитни ракавици/заштитна облека/заштита за очите/заштита за лицето
 - **Реакција**
 - АКО ДОЈДЕ ВО ДОПИР СО КОЖАТА: Измијте со многу сапун и вода.
 - Соблечете ја контаминираната облека и исперете ја пред повторната употреба.
 - Специфичен третман, видете ги дополнителните информации за прва помош.
 - Ако се појави иритација на кожата: Побарајте медицинска помош.
 - АКО ДОЈДЕ ВО ДОПИР СО ОЧИТЕ: Внимателно исплакнете со вода неколку минути. Извадете ги контактните леќи, ако носите и ако може лесно да се извадат. Продолжете со плакнењето.
 - Ако продолжи иритацијата на очите: Побарајте медицинска помош
 - АКО СЕ ПРОГОЛТА: Веднаш повикајте ЦЕНТАР ЗА ТОКСИКОЛОГИЈА или доктор/лекар ако не се чувствувате добро.
 - Исплакнете ја устата.
 - **Чување/Фрлање**
 - Фрлете ја содржината и/или садот во согласност со локалните, регионалните, државните и/или меѓународните прописи.

11 Земање, транспорт и чување на примероците

Брисевите од инфекции на кожата и мекото ткиво може да се земат со уред за земање примерок Serheid со следење на стандардните постапки на институцијата на корисникот. Брисевите со примероци се враќаат во пластичната транспортна епрувета (препорачани се течен медиум на Стјуарт, уред за земање примероци Serheid или Copan), се чуваат на собна температура и се праќаат во областа за тестирање на GeneXpert за обработка следниот ден. Преостанатиот нетестиран брис за микробиолошка култура треба да се стави во соодветни транспортни системи и треба да се култивира во рок од 4 дена. Ако не биде испратен до следниот ден, примерокот треба да се транспортира на мраз. Алтернативно, брисевите може да се зачуваат на 2 - 8 °C за тестирање најмногу 5 дена.

12 Микробиолошка култура

За методи на култивирање инфекција на кожата и мекото ткиво, следете ги тековните лабораториски стандардни работни постапки. За култивирање на микроорганизмите, преостанатите нетестирани брисеви треба да се стават во соодветни транспортни системи и да се култивираат во рок од 4 дена.

13 Процедура

13.1 Подготовка на патронот

Важно Започнете го тестот во рок од 15 минути од додавањето на реагенсите во патронот.

За да ги додадете примерокот и реагенсот за елуација во патронот:

1. Извадете го патронот и реагенсот за елуација од пакетот.
2. Извадете го тампон стапчето од транспортниот сад.

Забелешка

Користете стерилна газа за ракување со тампон стапчето за сведување на минимум на ризикот од контаминација.

3. Вметнете го тампон стапчето во епруветата со реагенсот за елуација и скршете го тампон стапчето.
4. Затворете го капакот на вијалата за елуација и центрифугирајте на голема брзина 10 секунди.
5. Отворете го капакот на патронот. Со користење стерилна пипета за пренос, пренесете ја целата содржина на реагенсот за елуација во комората за примероци на патронот Xpert MRSA/SA SSTI.
6. Затворете го капакот на патронот.



Слика 1. Патрон Xpert MRSA/SA SSTI (поглед одозгора)

13.2 Почнување на тестот

Важно

Пред да го започнете тестот, уверете се дека датотеката за дефинирање на анализата Xpert MRSA/SA SSTI е увезена во софтверот.

Во овој дел се наведени стандардните чекори за работа со системот на инструменти GeneXpert. За детални упатства, видете го *Упатството за употреба на системот GeneXpert Dx* или *Упатството за употреба на системот GeneXpert Infinity*.

1. Вклучете го системот на инструменти GeneXpert :

Забелешка

Чекорите што ги следите може да се разликуваат ако администраторот на системот го променил стандардниот работен процес на системот.

- Ако го користите инструментот GeneXpert Dx, прво вклучете го инструментот, а потоа вклучете го компјутерот. Софтверот GeneXpert ќе се активира автоматски или можеби ќе треба да кликнете двапати на иконата за кратенка на софтверот GeneXpert Dx на работната површина на Windows®.
 - или
 - Ако го користите инструментот GeneXpert Infinity, вклучете го инструментот. Софтверот GeneXpert ќе се активира автоматски или можеби ќе треба да кликнете двапати на иконата за кратенка на софтверот Xpertise на работната површина на Windows®.
2. Најавете се на софтверот на системот на инструменти GeneXpert со користење на вашето корисничко име и лозинка
 3. Во прозорецот на системот GeneXpert , кликнете на **Создај тест (Create Test)** (GeneXpert Dx) или **Нарачки (Orders)** и **Нарачај тест (Order Test)** (Infinity). Се појавува прозорецот **Создај тест (Create Test)**.
 4. Скенирајте во Идентификациски код на пациентот (Patient ID) (незадолжително). Ако го внесувате Идентификацискиот код на пациентот (Patient ID), погрижете се правилно да го внесете Идентификацискиот код

на пациентот (Patient ID). Идентификацискиот код на пациентот (Patient ID) е поврзан со резултатите од тестот и е прикажан во прозорецот Преглед на резултатите (View Results).

5. Скенирајте го или внесете го Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID). Ако го внесувате Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID), погрижете се правилно да го внесете Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID). Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID) е поврзан со резултатите од тестот и е прикажан во прозорецот Преглед на резултатите (View Results).
6. Скенирајте го баркодот на патронот Xpert MRSA/SA SSTI. Со користење на информациите од баркодот, софтверот автоматски ги исполнува полињата за следните ставки: Избери анализа (Select Assay), Идентификациски код на серијата реагенси (Reagent Lot ID), Сериски број на патронот (Cartridge SN) и Рок на траење (Expiration Date).

Забелешка Ако баркодот на патронот Xpert MRSA /SA SSTI не може да се скенира, тогаш повторете го тестот со нов патрон.

7. Кликнете на **Започни тест (Start Test)** (GeneXpert Dx) или **Поднеси (Submit)** (Infinity). Внесете ја вашата лозинка во прозорецот за дијалог што се појавува.
8. За системот GeneXpert Infinity, ставете го патронот на подвижната лента. Патронот ќе се вчита автоматски, тестот ќе се изврши, а искористениот патрон ќе биде ставен во садот за отпад.

или

За инструментот GeneXpert Dx:

- a. Отворете ја вратата на модулот на инструментот со зелената светилка што трепка и вчитајте го патронот.
- b. Затворете ја вратата. Тестот започнува и зелената светилка престанува да трепка. Кога ќе заврши тестот, светилката се исклучува.
- c. Почекајте системот да ја отклучи бравата на вратата пред да ја отворите вратата на модулот и да го извадите патронот.
- d. Искористените патрони треба да се фрлат во соодветните садови за отпадни.

14 Преглед и печатење на резултатите

За подетални упатства за начинот на преглед и печатење на резултатите, видете во *Упатството за употреба на системот GeneXpert Dx* или *Упатството за употреба на системот GeneXpert Infinity*.

1. Кликнете на **Преглед на резултатите (View Results)** иконата за преглед на резултатите.
2. По завршувањето на тестот, кликнете на **копчето Извештај (Report)** во прозорецот Преглед на резултати (View Results) за преглед и/или генерирање датотека за извештај во формат PDF.

15 Контрола на квалитет

15.1 Вградени контроли на квалитетот

Секој тест вклучува контрола на обработката на примерокот (SPC или BG3 на екранот за преглед на резултатите за корисник со административно ниво) и контрола за проверка на сондата (PCC).

- **Контрола на обработката на примерокот (SPC)** - Гарантира дека примерокот е правилно обработен. SPC содржи спори на *Bacillus globigii* во форма на сув колач на спори што е вклучен во секој патрон за да се потврди соодветната обработка на примерокот за тестирање Xpert MRSA/SA SSTI. SPC потврдува дека лизата на *Staphylococcus aureus* се случила ако се присутни организмите и потврдува дека обработката на примерокот е соодветна. Дополнително, оваа контрола открива инхибиција поврзана со примерокот на анализата PCR во реално време, гарантира дека условите на реакцијата PCR (температура и време) се соодветни за реакцијата на засилување и дека реагенсите за PCR се функционални. SPC треба да биде позитивна во негативен примерок и може да биде негативна или позитивна во позитивен примерок. SPC е успешна ако ги исполнува потврдените критериуми за прифатливост.
- **Контрола за проверка на сондата (PCC)** - Пред почетокот на реакцијата PCR, системот GeneXpert го мери флуоресцентниот сигнал од сондите за да ја следи рехидратацијата на зрната, полнењето на спруветата за реакција, интегритетот на сондата и стабилноста на бојата. Проверката на сондата поминува ако ги задоволува доделените критериуми за прифатливост.

15.2 Надворешни контроли

За обука, тестирање на знаењето и надворешна контрола на квалитетот на системот GeneXpert може да се користат KWIK-STIK (Microbiologics, каталошки број 0158MRSA [SCCmec тип II] и каталошки број 0360SA како позитивни контроли и број 0371MSSE како негативна контрола). Соевите на MRSA кои претставуваат други типови SCCmec, ако се достапни, може да се користат како надворешни позитивни контроли за следење на прајмерите и сондите на анализата кои не се директно контролирани во анализата. Надворешните контроли може да се користат во согласност со институции за акредитација и владини прописи, доколку е применливо. Следете ја постапката за надворешна контрола на Microbiologics опишана подолу:

1. Скинете ја кесата кај засекот и извадете го KWIK-STIK.
2. Стиснете го долниот дел на ампулата во капачето за да ја ослободите течноста за хидратација.
3. Држете вертикално и потчукнете за да го овозможите протокот на течност низ отворот кон долниот дел на уредот што содржи пелет.
4. За да го овозможите растворањето на лиофилизираниот клеточен пелет, скршете ја пелетата и нежно стиснете ја долната комора.
5. Развојте го KWIK-STIK за да го ослободите тампон стапчето и вметнете го тампон стапчето во епруветата со реагенс за елуација (капаче на навртување).
6. Тампон стапчето KWIK-STIK сега е подготвено за тестирањето Xpert MRSA/SA SSTI.
7. Ако надворешната контрола на квалитетот не даде резултати според очекувањето, повторете го тестот за надворешна контрола и/или контактирајте со Cepheid за помош.

Примери на резултати од тестот Xpert MRSA/SA SSTI се прикажани на Слика 2 до Слика 5.

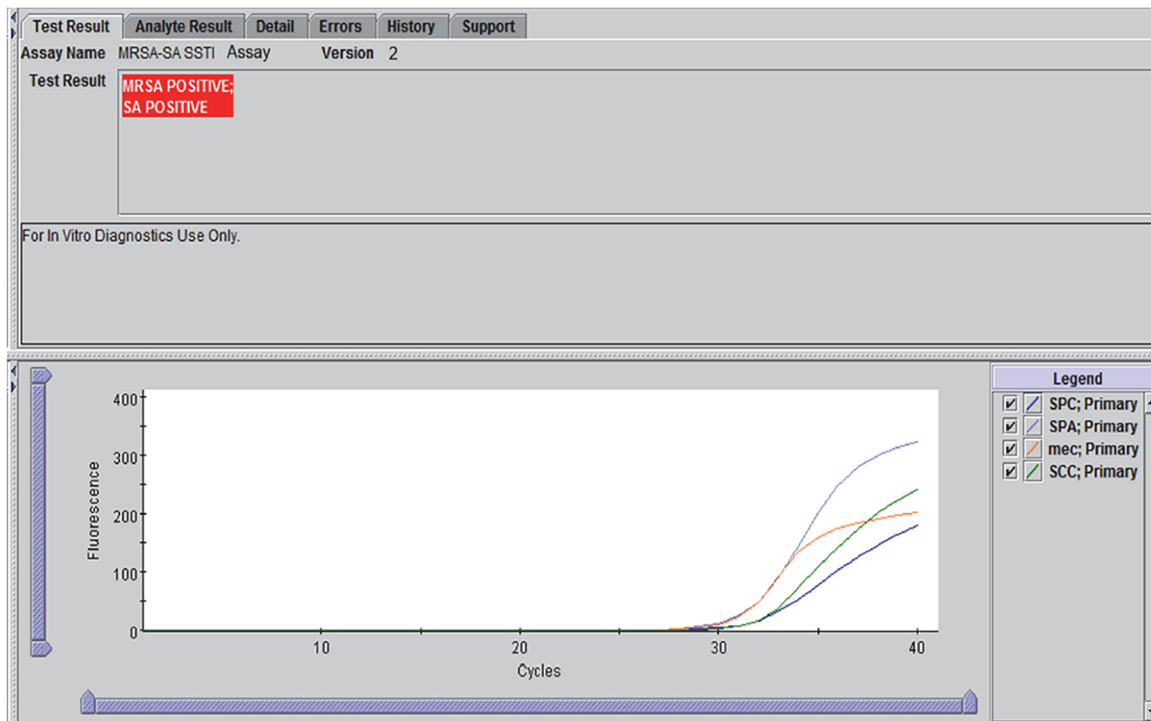
16 Интерпретирање на резултатите

Резултатите автоматски се интерполираат од системот GeneXpert од измерените флуоресцентни сигнали и вградените алгоритми за пресметка и ќе бидат прикажани во прозорецот **Преглед на резултатите (View Results)**. Можните резултати се:

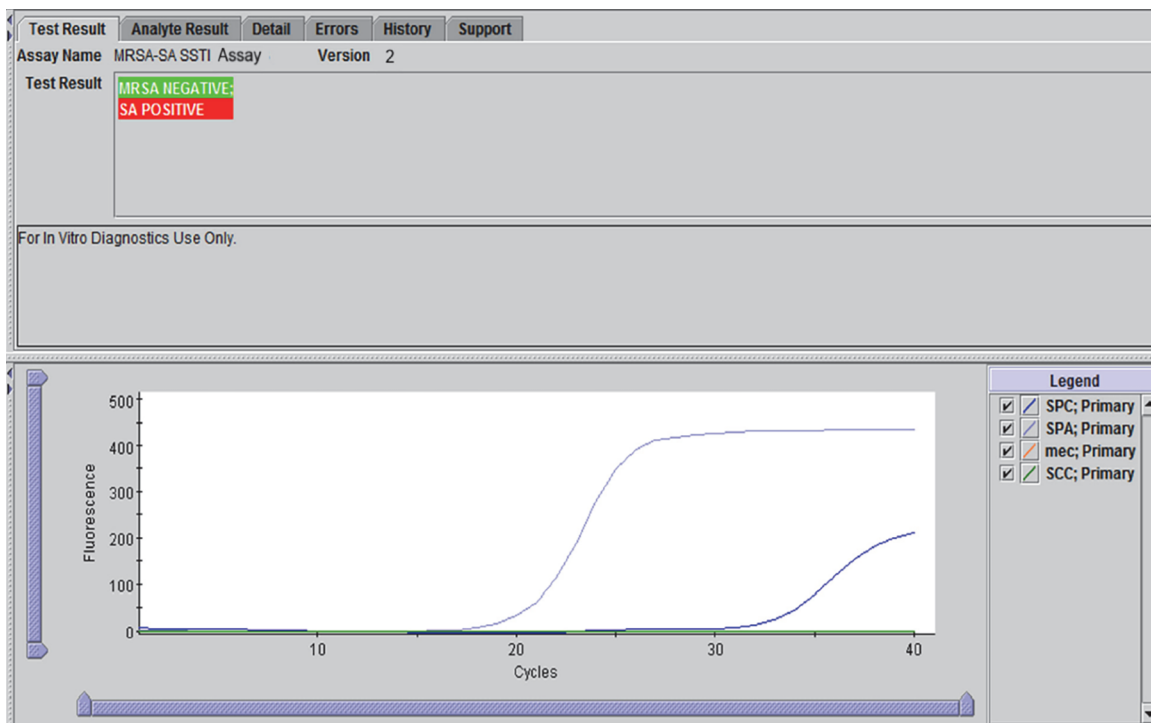
Табела 1. Резултати и интерпретација на инфекцијата на кожата и мекото ткиво со MRSA/SA

Резултат	Интерпретација
<p>ПОЗИТИВЕН НА MRSA/ ПОЗИТИВЕН НА SA</p> <p>Слика 2</p>	<p>Тестот Xpert MRSA/SA SSTI може да открие ДНК на MRSA и/или SA од инактивни организми.</p> <p>Откриени се целни секвенци на ДНК на MRSA/Откриена е целна секвенца на ДНК на SA.</p> <ul style="list-style-type: none"> • ПОЗИТИВЕН НА MRSA (MRSA POSITIVE) - сите цели на MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> и <i>SCCmec</i>) имаат праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над минималната поставка. • SPC – НП (NA) (не е применливо); SPC се занемарува бидејќи засилувањето на MRSA може да ѝ конкурира на оваа контрола. • Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
<p>НЕГАТИВЕН НА MRSA (MRSA NEGATIVE)/ ПОЗИТИВЕН НА SA (SA POSITIVE)</p> <p>Слика 3</p>	<p>Тестот Xpert MRSA/SA SSTI може да открие ДНК на MRSA и/или SA од инактивни организми.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Не се откриени целни секвенци на ДНК на MRSA/Откриена е целна секвенца на ДНК на SA. • ПОЗИТИВЕН НА SA (SA POSITIVE) - целта на SA (<i>spa</i>) има Ct во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над минималната поставка. Целната ДНК за <i>SCCmec</i> не е откриена, целната ДНК за <i>mecA</i> можеби е откриена или можеби не е откриена или целната ДНК за <i>SCCmec</i> е откриена и целната ДНК за <i>mecA</i> не е откриена („празна касета“). • SPC – НП (NA) (не е применливо); SPC се занемарува бидејќи засилувањето на SA може да ѝ конкурира на оваа контрола. • Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни. <p>Позитивен резултат од тестот не мора да укажува на присуство на инактивни организми. Меѓутоа, тој веројатно укажува на присуство на MRSA или SA.</p>
<p>НЕГАТИВЕН НА MRSA (MRSA NEGATIVE)/ НЕГАТИВЕН НА SA (SA NEGATIVE)</p> <p>Слика 4</p>	<p>Не е откриена целна секвенца на ДНК на <i>Staphylococcus aureus</i>. SPC ги исполнува критериумите за прифатливост.</p> <ul style="list-style-type: none"> • НЕГАТИВЕН (NEGATIVE) - не е откриена целна ДНК на <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>spa</i>). Целната ДНК за <i>mecA</i> можеби е откриена или можеби не е откриена, или целната ДНК за <i>SCCmec</i> можеби е откриена или можеби не е откриена. • SPC – УСПЕШНО (PASS); SPC има праг на циклусот во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над минималната поставка на крајната точка. • Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни. <p>Лажно негативен резултат за MRSA (резултат „НЕГАТИВЕН НА MRSA; ПОЗИТИВЕН НА SA“ („MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE“) наместо „ПОЗИТИВЕН НА MRSA; ПОЗИТИВЕН НА SA“ („MRSA POSITIVE; SA POSITIVE“) би можел да се добие ако во примерокот се присутни и MRSA и SA во сооднос MRSA:SA 1:1x10⁶ или поголем.</p> <p>Во клиничките студии, 5 од 246-те позитивни култури на MRSA имаа мешани инфекции со MRSA и SA. Xpert MRSA/SA SSTI идентификуваше 3 од 5-те мешани инфекции како Позитивен на MRSA и 2 од 5-те како Позитивен на SA/Негативен на MRSA.</p>

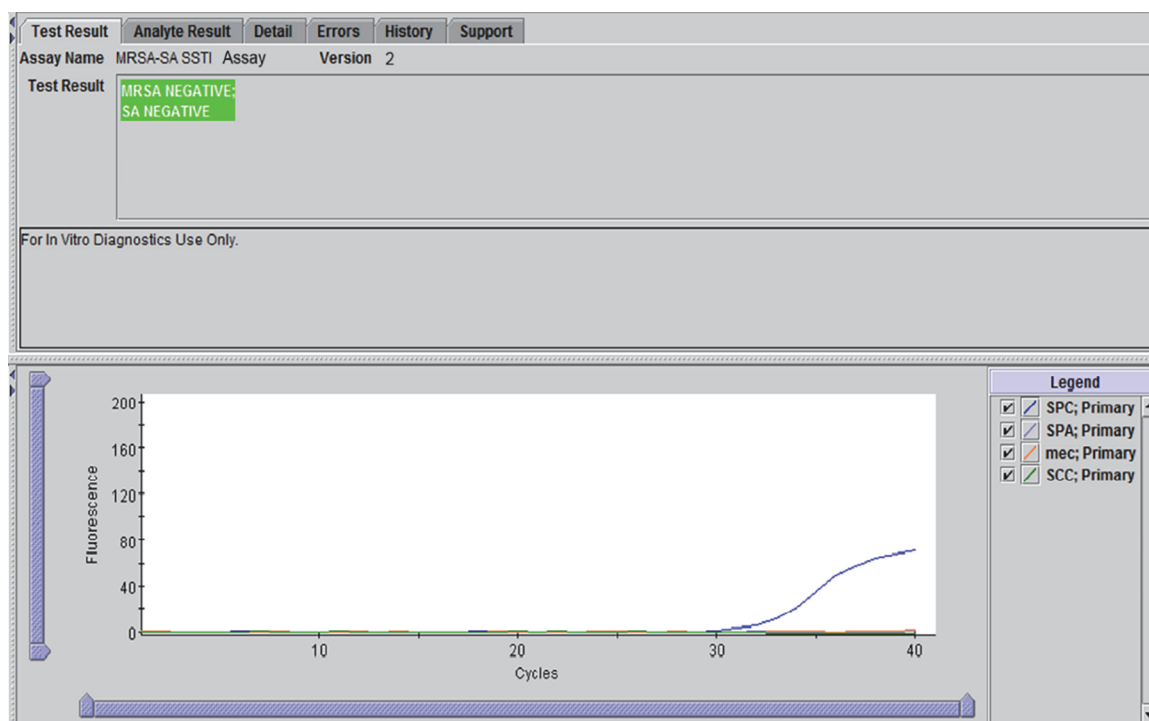
Резултат	Интерпретација
<p>НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)</p> <p>Слика 5</p>	<p>Присуството или отсуството на целни секвенци на ДНК на MRSA/SA не може да се утврди, повторете го тестот според упатствата во делот подолу. SPC не ги исполнува критериумите за прифатливост, примерокот не бил правилно обработен или PCR била инхибирана.</p> <ul style="list-style-type: none"> • НЕВАЖЕЧКИ (INVALID) - Присуството или отсуството на ДНК на <i>Staphylococcus aureus</i> не може да се утврди. • SPC-НЕУСПЕШНО (SPC-FAIL) - Целниот резултат за SPC е негативен и прагот на циклусот на SPC не е во рамките на важечкиот опсег и крајната точка е под минималната поставка. • Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
<p>ГРЕШКА (ERROR)</p>	<p>Присуството или отсуството на целни секвенци на ДНК на MRSA/SA не може да се утврди, повторете го тестот според упатствата во делот подолу. Контролата на проверката на сондата не успеа што веројатно е поради неправилно наполнета епрувета за реакција, проблем со интегритетот на сондата или поради тоа што биле надминати ограничувањата за максималниот притисок.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA - НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) • SA - НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) • SPC – НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) • Проверка на сондата - НЕУСПЕШНО (FAIL)*; еден или повеќе од резултатите од проверките на сондите се неуспешни. <p>* Ако проверката на сондата поминала, грешката е предизвикана од дефект на системска компонента.</p>
<p>НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)</p>	<p>Присуството или отсуството на целни секвенци на ДНК на MRSA/SA не може да се утврди, повторете го тестот според упатствата во делот подолу. Собрани се недоволно податоци за да се произведе резултат од тестот. На пример, до ова може да дојде ако операторот запрел тест што бил во тек.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA - НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) • SA - НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) • SPC – НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) • Проверка на сондата – НП (NA) (не е применливо)



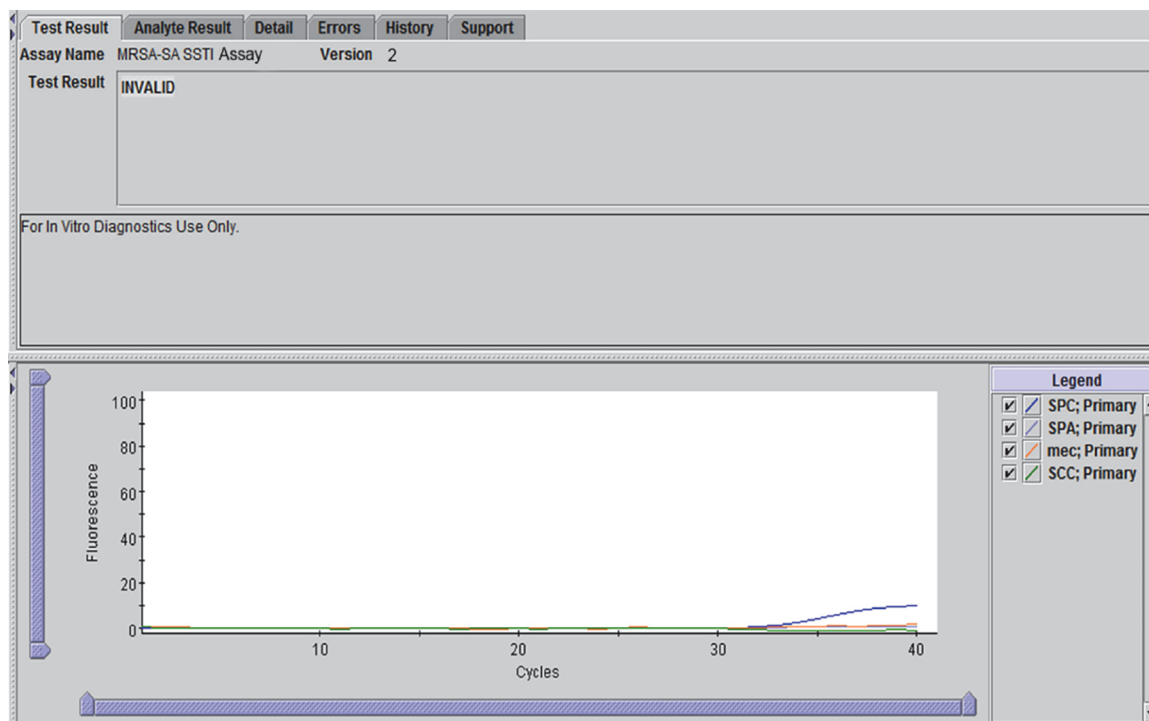
Слика 2. Пример за резултат Позитивен на MRSA/Негативен на SA



Слика 3. Пример за резултат Негативен на MRSA/Позитивен на SA



Слика 4. Пример за резултат Негативен на MRSA/Негативен на SA



Слика 5. Пример за неважечки резултат

17 Причини за повторување на анализата

17.1 Причини за повторување на тестот

Повторете го тестот со користење нов патрон (не употребувајте го патронот повторно) и нови реагенси. Спроведете ја постапката за повторно тестирање во рок од 3 часа од неодреден резултат.

- **НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)** резултат укажува на тоа дека контролната SPC не успеала. Примерокот не е правилно обработен или PCR е инхибирана.
- **ГРЕШКА (ERROR)** резултат укажува на тоа дека контролата за проверка на сондата била неуспешна и анализата била прекината веројатно поради неправилно наполнета епрувета за реакција, бидејќи бил откриен проблем со интегритетот на сондата за реагенси или бидејќи биле надминати максималните ограничувања за притисокот.
- А **НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)** укажува на тоа дека се собрани недоволно податоци. На пример, операторот запрел тест што бил во тек.
- Ако надворешната контрола на квалитетот не даде резултати според очекувањето, повторете го тестот за надворешна контрола и/или контактирајте со Cepheid за помош.

17.2 Процедура за повторно тестирање

Повторете го тестот со користење нов патрон (не употребувајте го патронот повторно) и нова вијала со реагенс за елуација.

За да направите повторно тестирање, ако правите повторно тестирање во рок од 3 часа од неодреден резултат*:

1. Пренесете ја преостанатата содржина од комората за примероци во нов реагенс за елуација со користење пипета за пренос за еднократна употреба.
2. Центрифугирајте и додајте ја целата содржина на реагенсот за елуација во комората за примероци на новиот патрон за тестирање MRSA/SA SSTI.
3. Затворете го капакот и започнете нов тест.

* Ако повторното тестирање не може да се направи во рок од 3 часа, употребете нов примерок.

18 Ограничувања

- Резултатите од тестот Xpert MRSA/SA SSTI се потврдени со користење постапки дадени само во овој прилог во пакувањето. Менувањето на овие постапки може да ги промени резултатите од тестот. Резултатите од тестот Xpert MRSA/SA SSTI треба да се интерпретираат заедно со други лабораториски и клинички податоци кои му се достапни на лекарот.
- Тестот Xpert MRSA/SA SSTI може да открие ДНК на MRSA и/или SA од инактивни организми. Веројатноста да се појави ова се зголемува за пациенти на антибиотици. Во главната клиничка студија, стапката на лажно позитивни резултати (во однос на културата) во откривањето на SA кај пациенти кои користат антибиотици, во период од 3 недели пред тестирањето со Xpert MRSA/SA, беше 13,8 %. Стапката на лажно позитивни резултати (во однос на културата) во откривањето на MRSA кај пациенти кои користат антибиотици, во период од 3 недели пред тестирањето со Xpert MRSA/SA, беше 9,5 %.
- Позитивен резултат од тестот не мора да укажува на присуство на инактивни организми. Меѓутоа, тој веројатно укажува на присуство на MRSA или SA.
- Тестирањето со тестот Xpert MRSA/SA SSTI треба да се користи како дополние на другите достапни методи.
- Погрешни резултати од тестот може да се појават од неправилно земање примероци, непочитување на препорачаните процедури за земање, постапување и чување на примероците, техничка грешка, збрка со примероците или поради тоа што бројот на организми во примерокот е пренизок за да може тестот да ги открие. Неопходно е внимателно почитување на упатствата во овој прилог за да се избегнат погрешни резултати.
- Со оглед на тоа што откривањето на MRSA и SA зависи од бројот на организми што се присутни во примерокот, веродостојните резултати зависат од правилното земање, ракување и чување на примерокот.
- Мутациите или полиморфизмите кај прајмерот или региите на поврзување на сондата може да влијаат врз откривањето нови или непознати варијанти на MRSA што доведува до лажно негативен резултат.
- Кај примероците кои содржат и MRSA и SA, тестот Xpert MRSA/SA SSTI може да не ги открие организмите на SA отпорни на метицилин. (Во главната клиничка студија, тестот Xpert MRSA/SA SSTI не успеа да открие 2 од 5-те примероци позитивни на култура на MRSA во ситуации со документирано мешани инфекции со MRSA/SA.)

- Кај мешана култура, аналитичката граница на откривање на MRSA е променлива кога се присутни екстремно високи концентрации на SA. Конкуренција од SA беше забележана при сооднос MRSA:SA 1:1x10⁶. Во клиничките студии, 5 од 246-те позитивни култури на MRSA имаа мешани инфекции со MRSA и SA. Xpert MRSA/SA SSTI идентификуваше 3 од 5-те мешани инфекции како Позитивен на MRSA и 2 од 5-те како Позитивен на SA/Негативен на MRSA.
- Инхибицијата на тестот MRSA/SA SSTI е набљудувана со следните супстанции: StaphA +Septic (5 % маса/волумен), хидрокортизон (5 % маса/волумен) и антибактериско средство за дезинфекција на раце (5 % маса/волумен).
- Примероците со содржина на Mergochrome не може да се користат поради неговата флуоресцентна природа.
- Тестот Xpert MRSA/SA SSTI ќе генерира лажно позитивен резултат за MRSA при тестирање примерок со мешана инфекција SSTI кој содржи коагулаза негативна *Staphylococcus* (MRCNS) отпорна на метицилин и празна касета на *Staphylococcus aureus* (SA) чувствителна на метицилин.
- Поради факторот на разредување поврзан со постапката за повторно тестирање, можно е примероците позитивни на MRSA или SA многу блиску или на границата на откривање (LoD) на тестот Xpert MRSA/SA SSTI да резултираат со лажно негативен резултат по повторното тестирање.

19 Интерферирачки супстанции

Во истражувачката студија за тестот Xpert MRSA/SA SSTI беше забележано дека 428 од 848-те примероци содржат крв, а беше забележано дека 404 содржат други неспецифични супстанции, што можеа потенцијално да интерферираат со анализата (имајте предвид дека некои примероци содржеа повеќе од еден тип на потенцијален загадувач). Точните тестови на Фишер направени на податоците генерирани од брисевите со и без овие потенцијално интерферирачки супстанции покажаа дека нивното присуство не влијаеше на резултатите од тестот.

Во неклиничка студија, потенцијалните интерферирачки супстанции кои може да се присутни кај клинички примероци со инфекција на кожата и мекото ткиво беа директно проценети во однос на резултатите од тестот Xpert MRSA/SA SSTI. Потенцијално интерферирачките супстанции кај инфекциите на кожата и мекото ткиво може да вклучуваат, но не се ограничени на: крв, гној, плазма, масти за локална употреба (антибиотски/антисептични/против болки), средства за отстранување мртво ткиво и тинктури. Овие супстанции се наведени во Табела 2 и Табела 3 при што се прикажани активните состојки и тестираните концентрации. Инхибицијата на тестот MRSA/SA SSTI е набљудувана со следните супстанции: StaphA +Septic (5 % маса/волумен), хидрокортизон (5 % маса/волумен) и антибактериско средство за дезинфекција на раце (5 % маса/волумен).

Примероците со содржина на Mergochrome не може да се користат поради неговата флуоресцентна природа.

Табела 2. Потенцијално интерферирачки супстанции за инфекција на кожата и мекото ткиво кои се тестираани

Супстанција	Активна состојка	% на тестираани
Пуфер од триетилтин хлорид	Контрола	Контрола
Леукоцитотромбоцитен слој (сурогат на рана)	Бели крвни клетки (1,5e9/ml)	50 % (волумен/волумен)
Цела крв (без MRSA/SA)	НП	50 % (волумен/волумен)
Плазма	НП	50 % (волумен/волумен)
Неоспорин	400 единици бацитрацин 5.000 единици полимиксин Б 3,5 mg неомицин	1 % и 5 % (маса/волумен)
StaphA+Septic	0,2 % бензетониум хлорид, 2,5 % лидокаин HCl	1 % и 5 % (маса/волумен)
Хидрокортизон	1 % хидрокортизон	1 % и 5 % (маса/волумен)
Voil-Ease	20 % бензокаин	1 % и 5 % (маса/волумен)
Тинктура на јод	2 % јод	50 % (волумен/волумен)

Табела 3. Потенцијално интерферирачки супстанции за инфекција на кожата и мекото ткиво кои се тестирани

Супстанција	Активна состојка	% на тестирани
Пуфер од триетилтин хлорид (контрола)	Контрола	Контрола
Мупироцин	0,2 % бензетониум хлорид, 2,5 % лидокаин HCl	5 % (маса/волумен)
Цела крв (без MRSA/SA)	НП	50 % (волумен/волумен)
Физиолошки раствор	0,65 % натриум хлорид	50 % (волумен/волумен)
Антибактериско средство за дезинфекција на раце	62 % етил алкохол	1 % и 5 % (маса/волумен)
70 % изопропил алкохол	70 % изопропил алкохол	50 % (волумен/волумен)

20 Очекувани вредности

Во клиничката студија Xpert MRSA/SA SSTI, вкупно 848 примероци од инфекција на кожата и мекото ткиво (SSTI) беа вклучени од четири големи болници ширум Соединетите Американски Држави. Бројот и процентот на позитивни случаи според методот на референтна култура, пресметани според возрастна група, се прикажани во Табела 4.

Табела 4. Забележана преваленца на MRSA и SA според култура

Возрасна група	Вкупно N	MRSA според култура		SA според култура	
		Број на позитивни	Забележана преваленца	Број на позитивни	Забележана преваленца
Возрасти помали од 3	34	11	32,4 %	21	61,8 %
Возрасти од 3 до 18	100	25	25,0 %	55	55,0 %
Возрасти од 19 до 65	614	188	30,6 %	300	48,9 %
Возрасти од 66 и постари	100	22	22,0 %	35	35,0 %

21 Карактеристики на резултатите

21.1 Клинички резултати

Карактеристиките на тестот Xpert MRSA/SA SSTI беа утврдени во повеќецентарска проспективна истражувачка студија во четири американски институции со споредба на тестот Xpert MRSA/SA SSTI со референтна култура. Испитаниците вклучуваа лица чија рутинска нега бараше земање брис од инфекцијата на кожата и мекото ткиво на пациентот за култура.

Двојни брисеви беа земени од секој испитаник. Еден брис беше тестиран со тестот Xpert MRSA/SA SSTI во центарот на вклучување, другиот брис беше тестиран со стандардниот метод на центарот, а преостанатиот примерок беше испратен во централната лабораторија за тестирање на референтната култура.

Во централизираната лабораторија, примерокот беше збогатен преку ноќ во соина чорба на триптиказа со 6,5 % NaCl. Соината чорба на триптиказа потоа беше размачкана во линии на плочи со цефокситин (за MRSA) и без цефокситин (за SA). Ако која било или двете плочи со SA или MRSA покажале претпоставени колонии на S.

aureus, колониите беа супкултивирани на плоча со крвен агар. Проверката на претпоставени позитивни колонии се изврши со катализа, коагулаза во епрувета и метод на Грам. Отпорноста на оксацилин со посредство на *MecA* беше тестирана со тест на дифузија на диск со користење 30 µg диск на цефокситин и гранична вредност од 21/22 mm. Ако се утврдеше дека културите и на плочите SA и на плочите MRSA се негативни, архивираната соина чорба на трипликаза со 6,5 % NaCl беше супкултивирана врз крвен агар со обработка за SA/MRSA како што е претходно опишано.

Резултатите од тестот Xpert MRSA/SA SSTI беа пресметани во однос на резултатите од референтната култура.

21.2 Вкупни резултати

Вкупно 848 примероци беа тестирани за MRSA и SA со тестот и културата Xpert MRSA/SA SSTI.

Меѓу 848-те случаи во збирката на прифатливи податоци, употребата на антибиотици во период од 3 седмици пред земањето примероци беше пријавена кај 207 испитаници, а неупотребата на антибиотици беше потврдена за 441 испитаници; за 200 случаи, антибиотскиот статус беше непознат. Статистички значајно намалување кај стапката на позитивност на SA во однос на резултатите за културата беше забележано кога се користеа антибиотици ($p=0,007$); овој феномен е даден и во литературата.^{10, 11, 12, 13, 14} Стапката на позитивност на MRSA за култура беше, исто така, намалена, иако до помал степен ($p=0,022$). Намалување на позитивноста не беше забележана со тестот Xpert MRSA/SA SSTI кога се користеа антибиотици ниту пак беше забележана инхибиција кај анализата во присуство на антибиотици за локална употреба (видете во Дел 20 Интерферирачки супстанции). Намалените стапки на позитивност на културата за MRSA и SA во присуство на антибиотици ги предизвикаа поголемите стапки на позитивност од очекуваните забележани со тестот Xpert MRSA/SA SSTI.

Пет од 246-те позитивни култури на MRSA имаа мешани инфекции на MRSA и SA. Xpert MRSA/SA SSTI идентификуваше 3 од 5-те мешани инфекции како Позитивен на MRSA и 2 од 5-те како Позитивен на SA/Негативен на MRSA.

Резултатите од тестот Xpert MRSA/SA SSTI се сумирани во Табела 5 до Табела 7.

Табела 5. Резултати за MRSA/SA кај испитаници без употреба на антибиотици (во период од 3 седмици од земањето на примерокот) наспроти референтна култура

	Култура			Вкупно
	MRSA+	SA+/MRSA-	Негативен/ Без раст	
MRSA+	137 ^a	2	6	145
SA+/MRSA-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Вкупно	146	85	210	441

^a 1 од 137-те беше мешана инфекција со MRSA и SA.

^b 2 од 3-те беа мешани инфекции со MRSA и SA.

Позитивна процентуална усогласеност (MRSA+) = 93,8; 95 % интервал на доверливост = 88,6 - 97,1

Негативна процентуална усогласеност (MRSA+) = 97,3; 95 % интервал на доверливост = 94,7 - 98,8

Позитивна процентуална усогласеност ((SA+/MRSA+) = 95,7; 95 % интервал на доверливост = 92,2 - 97,9

Негативна процентуална усогласеност (SA+/MRSA+) = 89,5; 95 % интервал на доверливост = 84,6 - 93,3

Меѓу испитаниците без употреба на антибиотици во период од 3 седмици пред земањето на примерокот, тестот Xpert MRSA/SA SSTI идентификуваше 93,8 % од примероците позитивни на MRSA и 97,3 % од примероците негативни на MRSA во однос на методот на референтна култура, а 95,7 % од примероците позитивни на SA и 89,5 % од примероците негативни на SA во однос на методот на референтна култура.

Меѓу овие испитаници без употреба на антибиотици, 96,8 % (427/441) беа успешни при првиот обид со тестот Xpert MRSA/SA SSTI. Преостанатите 14 дадоа неодредени резултати при првиот обид (6 НЕВАЖЕЧКИ (INVALID), 7 ГРЕШКА (ERROR) и 1 НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)). Од 14 неодредени при првиот обид, сите дадоа резултат при вториот обид.

Табела 6. Резултати за MRSA/SA кај испитаници со непозната употреба на антибиотици (во период од 3 седмици од земањето на примерокот) наспроти референтна култура

		Култура			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Негативен/ Без раст	Вкупно
Xpert	MRSA+	47 ^a	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Вкупно	50	47	103	200

^a 2 од 47-те беа мешани инфекции со MRSA и SA

Позитивна процентуална усогласеност (MRSA+) = 94,0; 95 % интервал на доверливост = 83,5 - 98,7

Негативна процентуална усогласеност (MRSA+) = 97,3; 95 % интервал на доверливост = 93,3 - 99,3

Позитивна процентуална усогласеност ((SA+/MRSA+) = 96,9; 95 % интервал на доверливост = 91,2 - 99,4

Негативна процентуална усогласеност (SA+/MRSA+) = 88,3; 95 % интервал на доверливост = 80,5 - 93,8

Кога беше непознато дали испитаниците земале антибиотици во период од 3 седмици пред земањето на примерокот, тестот Xpert MRSA/SA SSTI идентификуваше 94,0 % од примероците позитивни на MRSA и 97,3 % од примероците негативни на MRSA во однос на методот на референтна култура, а 96,9 % од примероците позитивни на SA и 88,3 % од примероците негативни на SA во однос на методот на референтна култура.

Меѓу овие испитаници со непозната употреба на антибиотици, 97,0 % (194/200) беа успешни при првиот обид со тестот Xpert MRSA/SA SSTI. Преостанатите 6 дадоа неодредени резултати при првиот обид (2 **НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)**, 3 **ГРЕШКА (ERROR)** и 1 **НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)**). Од 6 неодредени при првиот обид, сите дадоа резултат при вториот обид.

Табела 7. Резултати за MRSA/SA кај испитаници со позната употреба на антибиотици (во период од 3 седмици од земањето на примерокот) наспроти референтна култура

		Култура			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Негативен/ Без раст	Вкупно
Xpert	MRSA+	44	2	10	56
	SA+/MRSA-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Вкупно	50	34	123	207

Позитивна процентуална усогласеност (MRSA+) = 88,0; 95 % интервал на доверливост = 75,7 - 95,5

Негативна процентуална усогласеност (MRSA+) = 92,4; 95 % интервал на доверливост = 87,0 - 96,0

Позитивна процентуална усогласеност ((SA+/MRSA+) = 95,2; 95 % интервал на доверливост = 88,3 - 98,7

Негативна процентуална усогласеност (SA+/MRSA+) = 76,4; 95 % интервал на доверливост = 67,9 - 83,6

Меѓу испитаниците со позната употреба на антибиотици во период од 3 седмици пред земањето на примерокот, тестот Xpert MRSA/SA SSTI идентификуваше 88,0 % од примероците позитивни на MRSA и 92,4 % од примероците негативни на MRSA во однос на методот на референтна култура, а 95,2 % од примероците позитивни на SA и 76,4 % од примероците негативни на SA во однос на методот на референтна култура.

Меѓу овие испитаници со употреба на антибиотици, 96,1 % (199/207) од овие прифатливи примероци беа успешни при првиот обид со тестот Xpert MRSA/SA SSTI. Преостанатите 8 дадоа неодредени резултати при првиот обид (5 **НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)** и 3 **ГРЕШКА (ERROR)**). Од 89 неодредени при првиот обид, сите дадоа резултат при вториот обид.

21.3 Варијанти со празна касета

За да може еден изолат да биде идентификуван како позитивен на MRSA со тестот Xpert MRSA/SA SSTI, тестот за *spa* мора да биде позитивен како и тестот за *mecA* и *SCCmec*. Изолат што е позитивен на *spa* и *SCCmec*, но не на *mecA* е даден како SA бидејќи е чувствителен на метицилин. Оваа ситуација може да се појави кога дел од елементот *SCCmec* што носи *mecA* се отсекува, но краевите на овој подвижен елемент остануваат на место, давајќи позитивен сигнал *SCCmec*. Овие изолати понекогаш се нарекуваат „варијанти на празни касети“ и не се невообичаени во клинички услови. Значењето на овие изолати е потенцијално да попречат анализа за MRSA што директно не го открива генот *mecA*. Тестот Xpert MRSA/SA SSTI е направен за точно идентификување на овие варијанти како SA.

Меѓу прифатливите примероци вклучени во анализите на податоци прикажани во овој извештај, вкупно 16 изолати одговараат на профилот на празна касета што резултира со резултати од тестирањата *spa* и *SCCmec*, но нема откривање на *mecA* (Ct = 0) како што е прикажано во Табела 8. Петнаесет (15) од 16-те беа потврдени вистински негативни изолати на MRSA во однос на културата, а 14 од 16-те беа потврдени вистински позитивни изолати на SA во однос на културата. Еден изолат беше потврден како MRSA според културата, а 2 изолати беа негативни и на MRSA и на SA според културата.

Табела 8. Резултати за MRSA/SA SSTI наспроти референтна култура - варијанти на празна касета

Број на испитаникот	Резултат Xpert	<i>spa</i> (Ct)	<i>mecA</i> (Ct)	<i>SCCmec</i> (Ct)	Култура	Xpert наспроти култура	
						MRSA	SA
1	SA	23,6	0	26,0	SA	TN	TP
2	SA	14,7	0	16,5	SA	TN	TP
3	SA	20,5	0	34,0	SA	TN	TP
4	SA	18,4	0	21,0	SA	TN	TP
5	SA	15,6	0	28,4	MRSA	FN	TP
6	SA	17,2	0	31,6	SA	TN	TP
7	SA	34,1	0	35,6	Негативен	TN	FP
8	SA	29,1	0	33,0	SA	TN	TP
9	SA	12,7	0	23,5	SA	TN	TP
10	SA	18,2	0	27,6	SA	TN	TP
11	SA	18,4	0	22,0	SA	TN	TP
12	SA	25,5	0	27,7	SA	TN	TP
13	SA	20,0	0	22,1	Негативен	TN	FP
14	SA	26,0	0	28,3	SA	TN	TP
15	SA	23,9	0	25,7	SA	TN	TP
16	SA	19,9	0	34,0	SA	TN	TP

22 Аналитички резултати

22.1 Студија на вкрстената реактивност на аналитичката специфичност

Сто и пет (105) соеви беа земени, квантифицивани и тествани со користење на тестот Xpert MRSA/SA SSTI. Деведесет и осумте култури од Збирката култури од американски тип (ATCC) и 7-те култури од Мрежата на антимицробна отпорност кај *Staphylococcus aureus* (NARSA) претставуваат видови кои се филогенетски поврзани со *Staphylococcus aureus* или со оние кои потенцијално се среќаваат во болничка средина.

Од овие, вклучени беа стафилококи чувствителни на метицилин и негативни на коагулаза (29) и стафилококи отпорни на метицилин и негативни на коагулаза (9). Тестираните организми беа идентификувани или како Грам позитивни (74), или како Грам негативни (28) или како квасец (3). Организмите беа дополнително класифицирани или како аеробни (95) или како анаеробни (10).

Две (2) или повеќе копии од секој изолат беа тестирани при 1,7 - 3,2 единици на Мекфарланд. Според условите на студијата, сите изолати беа дадени како негативни на MRSA и негативни на SA; ниту еден од изолатите не беше откриен од тестот Xpert MRSA/SA SSTI. Во студијата беа вклучени позитивни и негативни контроли. Аналитичката специфичност беше 100 %.

22.2 Процена на граничните соевите на *Staphylococcus Aureus* отпорни на оксацилин (BORSA)

Беа тестирани седум (7) добро карактеризирани гранични соеви на *Staphylococcus aureus* (BORSA) отпорни на оксацилин, вклучувајќи еден очигледен случај на „празна касета“ (погледнете погоре). *Staphylococcus aureus* отпорен на метицилин е отпорен на сите лекови β-лактам преку алтернативниот протеин PBP2a што се врзува на пеницилин шифриран со *mecA*¹⁵. Соевите BORSA се негативни на *mecA*, но имаат минимална концентрација за инхибиција на оксацилинот (MIC) ≥ 2 и ≤ 8 µg/ml. Особено е вредно да се одвои MRSA од BORSA за да се спречат непотребната и неправилна употреба на ванкомицин и мерките за изолација што не се гарантирани за пациенти заразени со сој суспектен на β-лактама¹⁶.

Според условите на оваа студија, сите 7 изолати на BORSA (вклучувајќи го и очигледниот изолат „празна касета“) беа дадени како Негативен на MRSA/Негативен на SA и во високи и во ниски концентрации на клетки со користење на тестот Xpert MRSA/SA SSTI. Не беа дадени сигнали за *mecA*. Овие резултати покажуваат дека сојот BORSA ќе биде точно идентификуван како Негативен на MRSA/Позитивен на SA и нема да даде лажно позитивен резултат од тестот за MRSA со користење на тестот Xpert MRSA/SA SSTI.

22.3 Аналитичка чувствителност

Студии за граница на откривање

Беа спроведени студии за да се одредат интервалите на доверливост од 95 % за аналитичката граница на откривање (LoD) на клетки на *Staphylococcus aureus* (SA) и клетки на *Staphylococcus aureus* (MRSA) отпорни на метицилин разредени во матрица на сурогат рани од човечко потекло. Матрицата на сурогат рани се состоеше од концентрат на бели крвни клетки (WBC) подготвен од цела крв со центрифугирање. Матрицата содржеше и црвени крвни клетки (RBC) и плазма и занемарлива количина на антикоагуланс (CPD or CPDA-1). Границата на откривање е дефинирана како најмалиот број на единици за формирање колонија (CFU) по примерок што може репродуктивно да се издвои од негативните примероци со 95 % доверливост или најниската концентрација при која 19 од 20 копии биле позитивни.

За MRSA, беа проценети 20 копии при секоја тестирана концентрација на MRSA (CFU/брис) за 6 поединечни изолати кои ги претставуваат типовите I, II, III, IVa, V и VI на SCC*mec*. При карактеризирањето со гел-електрофореза во пулсно поле (PFGE), застапени беа USA100, најчестиот сој што се стекнува во здравствените институции и USA400, еден од најчестите соеви што се стекнува во заедниците.

За SA, беа проценети 20 копии при секоја концентрација на SA (CFU/брис) за 3 поединечни изолати на SA. Беа застапени американските типови USA900 и USA1200.

Проценката и интервалите на доверба беа утврдени со користење логистичка регресија со податоците (број на позитивни резултати по број на копии на секое ниво) во однос на опсегот на тестирани CFU/брис. Интервалите на доверба беа утврдени со користење процени на максимална веројатност на параметрите на логистичкиот модел со користење голема матрица на варијанса-коваријанса на примероци. Точкестите процени на границата на откривање и горните и долните интервали на доверба од 95 % за секоја SA и секој тестиран тип на MRSA SCC*mec* се сумирани во Табела 9 и Табела 10.

Табела 9. Интервали на доверба од 95 % за аналитичката граница на доверливост - SA

Идентификација на сојот на SA	PFGE	Граница на откривање (CFU/брис)	Долен 95 % CI	Горен 95 % CI
-------------------------------	------	---------------------------------	---------------	---------------

Идентификација на сојот на SA	PFGE	Граница на откривање (CFU/брис)	Долен 95 % CI	Горен 95 % CI
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	непознато	123	97	188

Табела 10. Интервали на доверба од 95 % за аналитичката граница на доверливост - MRSA

Идентификација на сојот на MRSA	Тип на SCCmec	PFGE	Граница на откривање (CFU/брис)	Долен 95 % CI	Горен 95 % CI
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	непознато	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Резултатите од оваа студија покажуваат дека тестот Хpert MRSA/SA SSTI ќе даде позитивен резултат за SA 95 % од времето со 95 % доверливост за брис од рана со содржина од 150 CFU и позитивен резултат за MRSA 95 % од времето со 95 % доверливост за брис од рана со содржина од 300 CFU.

Сто дваесет и еден (121) дополнителни соеви на *Staphylococcus aureus* беа тестирани со користење на тестот Хpert MRSA/SA SSTI. Ноќните култури се одгледуваа во хранлив медиум за култура (ВН) и беа прилагодени на 0,5 единици на Мекфарланд. Сите соеви беа тестирани во три примероци со користење 100 µl култури дополнително разредени 100 илјади до еден милион пати.

Соевите на MRSA (78) и SA (43) беа избрани за да може во целост да го претстават опсегот на генетска разновидност што го има кај видовите *Staphylococcus aureus* врз основа на филогенетската структура. Збирките претставуваат примарни родови со акцент на специфични клонални комплекси во чии рамки главно се набљудува MRSA. Беа вклучени родовите кои содржат MRSA и SA, како и оние кои содржат исклучиво SA.

Тестот Хpert MRSA/SA SSTI правилно идентификуваше 116 од 121 соеви. Петте несогласувања се карактеризираа со каталаза, коагулаза во епрувета и метод на Грам. Отпорноста на оксацилин со посредство на *MecA* беше проценета со дифузија на диск со користење 30 µg диск на цефокситин и гранична вредност на дијаметарот од 21/22 mm.

Три (3) од 78-те соеви на MRSA дадоа резултат Негативен на MRSA/Позитивен на SA со користење на тестот Хpert MRSA/SA SSTI. Дополнителната карактеризација покажува дека овие соеви не се отпорни и биле правилно дадени како Негативен на MRSA; Позитивен на SA.

Два (2) од 43-те соеви на SA дадоа резултат позитивен на MRSA/Позитивен на SA со користење на тестот Хpert MRSA/SA SSTI. Дополнителната карактеризација покажува дека овие соеви се отпорни и биле правилно дадени како Позитивен на MRSA; Позитивен на SA.

Секој од 12-те познати изолати на USA300 беше правилно даден како Позитивен на MRSA и Позитивен на SA како што се очекуваше.

23 Процена на варијантите на празни касети

Дваесет и два (22) изолати на *Staphylococcus aureus* идентификувани како „варијанти на празни касети“ беа тестирани со користење на тестот Хpert MRSA/SA SSTI. Ноќните култури беа прилагодени на 0,5 единици на Мекфарланд. Сите соеви беа тестирани од култури дополнително разредени 100 пати (високо) и 100 илјади пати (ниско).

Тестот Xpert MRSA/SA SSTI точно ги идентификуваше сите 22 изолати како негативни на MRSA и позитивни на SA. При двете тестирани концентрации на клетки, беа дадени само праговите на циклусот за целите *spr* и *SCCmec*. Не беа дадени прагови на циклус за *tesA*.

24 Студија за вкрстена контаминација

Направена е студија за да се покаже дека вградените патрони за еднократна употреба GeneXpert спречуваат пренесена контаминација кај циклус со негативни примероци по многу високопозитивни примероци во истиот модул на GeneXpert. Студијата се состоеше од негативен примерок обработен во истиот модул на GeneXpert, по високопозитивен примерок на MRSA (грубо 10^7 CFU/тест). Ова беше повторено 20 пати меѓу 2 модули на GeneXpert за вкупно 42 циклуси. Немаше докази за каква било вкрстена контаминација. Сите 21 позитивни примероци беа правилно дадени како Позитивен на MRSA/Позитивен на SA. Сите 21 негативни примероци беа правилно дадени како Негативен на MRSA/Негативен на SA.

25 Репродуцибилност

Беше тестиран панел од 10 примероци со променливи концентрации на SA, MRSA и *Staphylococcus epidermidis* (негативен) во 10 различни денови во секој од трите центри (10 примероци x 2 пати/ден x 10 дена x 3 центри). Една серија од комплетот Xpert MRSA/SA се користеше во секој од трите центри за тестирање. Тестовите Xpert MRSA/SA беа направени според постапката за тестирање Xpert MRSA/SA SSTI.

Табела 11. Резиме на резултатите за репродукцибилноста

Идентификација на примерок	Центар 1	Центар 2	Центар 3	Вкупна усогласеност
Негативен (MSSE)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Високо негативен на SA	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,7 % (58/60)
Ниско позитивен на SA	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3% (59/60)
Високо негативен на MRSA1	100 % (20/20)	90 % (18/20)	100 % (20/20)	96,6 % (58/60)
Ниско позитивен на MRSA1	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,6 % (58/60)
Високо негативен на MRSA2	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Ниско позитивен на MRSA2	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,6 % (58/60)
% на вкупна усогласеност по центар	100 % (140/140)	97,9 % (137/140)	95,7 % (134/140)	97,9 % (411/420)

Табела 12. Резиме на резултатите за вредноста на прагот на циклусот според ниво на примерок и сонда

Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
Контрола на обработката на примерокот (SPC)			
Високо негативен на MRSA1	34,52	0,82	2,36
Високо негативен на MRSA2	34,46	0,85	2,46

Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
Негативен (MSSE)	34,44	0,90	2,62
Високо негативен на SA	34,38	0,92	2,66
<i>spa</i>			
Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
Ниско позитивен на MRSA1	32,96	0,8	2,44
Ниско позитивен на MRSA2	31,05	0,69	2,21
Ниско позитивен на SA	33,91	0,8	2,35
<i>mecA</i>			
Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
Ниско позитивен на MRSA1	33,25	0,80	2,40
Ниско позитивен на MRSA2	31,50	0,68	2,16
<i>SCCmec</i>			
Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
Ниско позитивен на MRSA1	34,19	0,90	2,63
Ниско позитивен на MRSA2	33,13	0,68	2,05

Беше спроведена втора студија на репродукцибилноста со користење панел од 4 примероци на (SA: 10X LoD, MRSA1: 10X LoD, MRSA2: 10X LoD и негативна контрола: *Staphylococcus epidermidis*). Панелите беа тестирани во дупликати во 10 различни денови во секој од трите центри (4 примероци x 2 пати/ден x 10 дена x 3 центри). Една серија од тестот Хpert MRSA/SA SSTI се користеше во секој од трите центри за тестирање. Тестовите Хpert MRSA/SA SSTI беа направени според постапката за тестирање Хpert MRSA/SA SSTI. Точни резултати беа добиени кај 239 од 240 тестови.

Табела 13. Резиме на резултатите за репродукцибилноста

Идентификација на примерок	Центар 1	Центар 2	Центар 3	Вкупна усогласеност
Негативен (MSSE)	100 (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Умерено позитивен на SA ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Умерено позитивен на MRSA1 ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Умерено позитивен на MRSA2 ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3% (59/60)
% на вкупна усогласеност по центар	100 % (80/80)	100 % (80/80)	98,8 % (79/80)	99,6 % (239/240)

^a 10X LoD

Табела 14. Резиме на резултатите за вредноста на прагот на циклусот според ниво на примерок и сонда

Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
Контрола на обработката на примерокот (SPC)			
Умерено позитивен на MRSA1	35,72	1,87	5,24
Умерено позитивен на MRSA2	36,29	2,66	7,34
Умерено позитивен на SA	34,55	1,19	3,44
НЕГАТИВЕН	34,45	1,06	3,09
<i>spa</i>			
Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
Умерено позитивен на MRSA1	29,52	1,30	4,40
Умерено позитивен на MRSA2	28,91	1,03	3,57
Умерено позитивен на SA	30,59	0,91	2,99
<i>mecA</i>			
Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
Умерено позитивен на MRSA1	29,78	1,28	4,29
Умерено позитивен на MRSA2	29,32	1,24	4,22

Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
SCCmec			
Ниво	Средна вредност	Стандардна девијација	%CV
Умерено позитивен на MRSA1	31,49	1,26	3,99
Умерено позитивен на MRSA2	31,05	1,12	3,59

26 Референци

- Bannerman TL. 2003 Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Pages 384-404.
- Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al. 2006. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in the United States, 2001-2002. An Family Medicine. 4(2):132-137.
- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470-85.
- Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. JAMA 282(19):1745-51.
- Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Diseases 7(2) 323-6.
- Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.
- Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in hospitals. Antimicrobial. Agents Chemother. 51: 4342 – 4350.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
- 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).
- Ewig S, Schlochtermeier M, Göke N, et al. 2002. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions. Chest. 121:1486-1492.
- RG Dotson and SK Pingleton. 1993. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. Chest. 103, 541-546.
- Souweine B, Veber B, Bedos JP, et al. 1998. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. Crit Care Med. Feb;26(2):236-244.
- Kanegaye JT, Soliemanzadeh P, Bradley JS, et al. 2001. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. Pediatrics. 108(5):1169-1174.
- Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. Sep;131:785-787.
- Nadarajah J, et. al., Identification of different clonal complexes and diverse amino acid substitutions in penicillin-binding protein 2 (PBP2) associated with borderline oxacillin resistance in Canadian *Staphylococcus aureus* isolates. J of Med Micro (2006), 55: 1675-1683.
- Ribeiro J, et. al., Misclassification of Susceptible Strains of *Staphylococcus aureus* as Methicillin-Resistant *S. aureus* by a rapid Automated Susceptibility Testing System. (1999), 37: 1619-1620.
- REGULATION (EO) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing. List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2006).
- Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).

27 Локации на седиштата на Cepheid

Корпоративно седиште

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европско седиште

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

28 Техничка помош

Соберете ги следните информации пред да стапите во контакт со одделот за техничка поддршка на Cepheid:

- Име на производот
- Број на серијата
- Сериски број на инструментот
- Пораки за грешка (ако има)
- Верзија на софтверот и, ако е применливо, број на ознаката за сервис на компјутерот

Соединети Држави




Телефон: + 1 888 838 3222
Е-пошта: techsupport@cepheid.com















Франција

Телефон: + 33 563 825 319
Е-пошта: support@cepheideurope.com

Информациите за контакт за сите канцеларии за техничка поддршка на Cepheid се достапни на нашата интернет-страница: www.cepheid.com/en/support/contact-us

29 Табела на симболи

Симбол	Значење
	Каталожки број
	Медицински уред за <i>ин витро</i> дијагностика
	Да не се употребува повторно

Симбол	Значење
	Шифра на серијата
	Погледнете го упатството за употреба
	Внимание
	Производител
	Земја на производство
	Содржи доволно за <i>n</i> тестови
	Контрола
	Рок на траење
	Ознака CE – Европска сообразност
	Ограничување на температурата
	Предупредување
	Биолошки ризици
	Овластен претставник во Швајцарија
	Увозник



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



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



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



30 Историја на ревизии

Дел	Опис на промената
Табела на симболи	Додадени се CH REP и симболите и дефинициите на увозникот во табелата за симболи. Додадени се CH REP и информации за увозникот со адреса во Швајцарија.
Историја на ревизии	Ажурирана е табелата Историја на ревизии.