

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Bruksanvisning

CE **IVD**

Varumärken, patent och copyright-uttalanden

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[®], Cepheid-logotypen, GeneXpert[®], och Xpert[®] är varumärken som tillhör Cepheid, registrerade i USA och andra länder.

Alla andra varumärken tillhör respektive ägare.

KÖPET AV DENNA PRODUKT ÖVERFÖR DEN ICKE-ÖVERFÖRBARA RÄTTIGHETEN TILL KÖPAREN ATT ANVÄNDA PRODUKTEN I ENLIGHET MED DENNA BRUKSANVISNING. INGA ANDRA RÄTTIGHETER ÄR UTTRYCKLIGEN ÖVERFÖRDA, UNDERFÖRSTÅDDA ELLER VIA ESTOPPEL. DESSUTOM MEDFÖLJER INGA RÄTTIGHETER FÖR ÅTERFÖRSÄLJNING VID KÖPET AV DENNA PRODUKT.

© 2019–2023 Cepheid.

Se Avsnitt 30, Revisionshistorik, för en beskrivning av ändringar.

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.

1 Egendomsskyddat namn

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2 Allmänt namn

Xpert MRSA/SA SSTI

3 Avsedd användning

Cepheid Xpert[®] MRSA/SA-testet för hud- och mjukvävnadsinfektion (Xpert[®] MRSA/SA SSTI-testet) som utförts i GeneXpert[®] Dx System är en kvalitativ *in vitro* diagnostisk test avsedd för detektionen av *Staphylococcus aureus* (SA) och meticillinresistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) från svabbar från hud- och mjukvävnadsinfektion. Testet använder automatiserad realtids-PCR (Polymerase Chain Reaction) för att detektera MRSA/SA-DNA. Xpert MRSA/SA SSTI-testet är indicerat för användning tillsammans med andra laboratorietest som mikrobiologisk odling och kliniska data tillgängliga för klinikern som hjälp vid detektionen av MRSA/SA från hud- och mjukvävnadsinfektioner. Xpert MRSA/SA SSTI-testet är inte avsett att övervaka behandling av infektioner med MRSA/SA. Samtidiga odlingar för SA och MRSA är nödvändiga för att återhämta organismer för mottaglighetstestning eller epidemiologisk typning.

4 Sammanfattning och förklaring

Staphylococcus aureus (SA) är en väldokumenterad human opportunistisk patogen och en nosokomial huvudpatogen som orsakar en rad olika sjukdomar. Vissa av sjukdomarna involverar hud- och mjukvävnadsinfektioner, omfattande bölder och fureklar samt postoperativa sårinfektioner på olika ställen. Som en nosokomial patogen har *S. aureus* varit en huvudorsak till morbiditet och mortalitet. *S. aureus*-infektioner är ofta akuta och pyogena, och om det lämnas obehandlade, kan de spridas till omgivande vävnad eller via bakteriemier till metastaserande ställen (involverande andra organ). Några av de allvarligare infektionerna som produceras av *S. aureus* är bakteriemier, pneumoni, osteomyelit, akut endokardit, toxiskt chocksyndrom, matförgiftning, myokardit, perikardit, cerebrit, meningit, chorioamnionit, epidermal nekrolys och abscesser i muskler, urinvägarna, centrala nervsystemet och olika bukorgan.¹

Under tidigt 1950-tal hindrade förvärvet och spridningen av betalaktamasproducerande plasmider penicillinets verkan vid behandling av *S. aureus*-infektioner. 1959 introducerades meticillin, ett syntetiskt penicillin. Men 1960 identifierades meticillinresistenta *S. aureus*-stammar. Detta fastställdes vara resultatet av att *S. aureus* tog över *mecA*-genen. I dagens USA står MRSA för cirka 25 % av de nosokomiala infektionerna och rapporterna om samhällsförvärd MRSA ökar, vilket leder till betydande morbiditet och mortalitet. Mortaliteter som till 33 % och 16 % orsakats av bakteriemier av MRSA respektive meticillinkänsliga *S. aureus* (SA) har rapporterats. Det finns också problem med ökande kostnader för MRSA-infektioner. I försök att begränsa spridningen av dessa infektioner håller kontrollstrategier och -rutiner på att utvecklas och implementeras inom sjukvården. Att kontrollera MRSA är ett primärt fokus för de flesta kontrollprogram för sjukhusinfektioner. Den gällande standardmetoden för detektion av MRSA och SA är odling. Detta är mycket mödosamt och kan kräva flera dagar innan ett definitivt resultat kan genereras.^{2,3,4,5,6,7}

5 Metodens princip

GeneXpert-systemen provrening, nukleinsyraamplifiering och detektion av målsekvens i enkla eller komplexa prov med realtids-PCR-assayer. av ett instrument, en personator och förladdad mjukvara för att köra tester och granska resultaten. användning av kasserbara kassetter för engångsbruk som rymmer PCR reagenser och som står för PCR-processen. På grund av att kassetterna är fristående är korskontaminering mellan prov minimerad. För en fullständig beskrivning av , se tillämplig *användarmanual till GeneXpert Dx-systemet* eller *användarmanual till GeneXpert Infinity*.

Xpert MRSA/SA SSTI-testet inkluderar reagenser för detektionen av MRSA och SA och en sample processing control (SPC) för att kontrollera adekvat bearbetning av målbakterierna och för att övervaka förekomst av hämmare i PCR-reaktionen. SPC säkerställer också att PCR-reaktionens förhållanden (temperatur och tid) är lämpliga för amplifieringsreaktionen och att PCR-reagenserna fungerar. Probe check kontroll (PCC) verifierar rehydrering av reagenser, PCR-rörets fyllning i kassetten, probens integritet och färgens hållbarhet.

Primrar och prober i Xpert MRSA/SA SSTI-testet detekterar proprietära sekvenser för stafylokokprotein A (*spa*), genen för meticillin/oxacillinresistens (*mecA*) och stafylokokkassetten kromosom (*SCCmec*) som förts in på det SA-kromosomala *attB*-stället.

6 Reagenser och instrument

6.1 Tillhandahållna material

Xpert MRSA/SA SSTI-kitet innehåller tillräckligt med reagenser för att bearbeta 10 prov eller kvalitetskontroller. Kitet innehåller följande:

Xpert MRSA/SA SSTI-kassetter med integrerade reaktionsrör	10
<ul style="list-style-type: none"> • Kula 1, kula 2 och kula 3 (frystorkade) • Reagens 1 • Reagens 2 (natriumhydroxid) 	1 per kasset 3,0 ml per kasset 3,0 ml per kasset
Xpert MRSA/SA SSTI elueringsreagenspåse	10 x 2,0 ml per påse
<ul style="list-style-type: none"> • Elueringsreagens (guanidintiocyanat) 	
CD	1 per kit
<ul style="list-style-type: none"> • Assay Definition File (ADF) • Anvisningar om hur man importerar ADF in i GX-mjukvaran • Bruksanvisning (bruksanvisning) 	

Anm Säkerhetsdatablad (SDS) finns tillgängliga på www.cepheid.com eller www.cepheidinternational.com under fliken **SUPPORT**.

Anm Bovint serumalbumin (BSA) i kulorna inuti denna produkt producerades och tillverkades enbart från bovin plasma insamlad i USA. Inget protein från idisslare eller annat djurprotein gavs till djuren. Djuren testades och godkändes före och efter döden. Under bearbetning blandades inte materialet med andra djurmaterial

6.2 Förvaring och hantering

- Förvara Xpert MRSA/SA SSTI-kassetter och reagenser vid 2–28 °C.
- Använd inte reagenser eller kassetter som har passerat utgångsdatumet.
- Öppna inte en kasset förrän du är klar att genomföra testningen.
- Använd inte några reagenser som blivit grumliga eller missfärgade.

7 Nödvändiga material som inte tillhandahålls

- GeneXpert Instrument-systemet (katalognummer varierar med konfiguration): GeneXpert-instrument, dator med proprietär GeneXpert-mjukvaruversion 4.3 eller senare, streckkodspennläsare och användarmanual
- Skrivare: Om en skrivare behövs, kontakta Cepheid teknisk support för att ordna inköp av en rekommenderad skrivare.
- Cepheid provinsamlingsenhet (900-0370) eller motsvarande Copan
- Vortexblandare
- Kasserbara transferpipetter
- Steril gasväv


8 Tillgängliga material som inte tillhandahålls

KWIK-STIKs™ från Microbiologics katalognr 0158MRSA och katalognr 0360SA som externa positiva kontroller och 0371MSSE (meticillinkänsliga *Staphylococcus epidermidis*) som extern negativ kontroll.

9 Varningar och försiktighetsåtgärder

- Behandla alla biologiska prov, inklusive använda kassetter och reagenser, som om de kan överföra smittsubstanten. På grund av att det ofta är omöjligt att veta vilket som kan vara smittsamt ska alla biologiska prov behandlas med sedvanliga försiktighetsåtgärder. Riktlinjer för provhantering finns tillgängliga hos U.S. Centers for Disease Control and Prevention⁸ och Clinical and Laboratory Standards Institute.⁹
- I en blandodling som innehåller MRSA/SA och andra organismer (t.ex. gramnegativa bakterier, jäst) kan resultaten bli falskt negativa eller varierande beroende på den koncentration av MRSA/SA som förekommer, speciellt om koncentrationen av MRSA/SA är nära detektionsgränsen (LoD) för testet.
- Följ din institutions säkerhetsprocedurer vid arbete med kemikalier och hantering av biologiska prov.
- Xpert MRSA/SA SSTI-testet kan detektera MRSA- och/eller SA-DNA från icke-viabila organismer. Sannolikheten för att detta inträffar ökar för patienter som använder antibiotika.
- Xpert MRSA/SA SSTI-testet tillhandahåller inte antimikrobiella mottaglighetsresultat. Ytterligare tid krävs för att odla och utföra mottaglighetstestning.
- Ersätt inte Xpert MRSA/SA SSTI-testreagenser med andra reagenser.
- Öppna inte Xpert MRSA/SA SSTI-testkassetten lock med undantag för när ett prov eller en reagens tillsätts eller ett prov görs om.
- Använd inte en kassett som har tappats eller skakats efter tillsats av provet och reagenset.
- Använd inte en kassett som har ett skadat reaktionsrör.
- Varje Xpert MRSA/SA SSTI-testkassett för engångsbruk används för att bearbeta ett test. Återanvänd inte använda kassetter.
- Biologiska prov, överföringsanordningar och använda kassetter bör anses kunna överföra smittsubstanter som kräver sedvanliga försiktighetsåtgärder. Följ din institutions rutiner för miljöavfall för korrekt bortskaflande av använda kassetter och oanvända reagenser. Dessa material kan uppvisa egenskaper som kemiskt farligt avfall som kräver specifika nationella eller regionala bortskaflningsförfaranden. Om nationella eller regionala föreskrifter inte ger tydliga riktlinjer för korrekt bortskaflande ska biologiska prov och använda kassetter kasseras enligt WHO:s (Världshälsoorganisationens) föreskrifter om hantering och bortskaflande av medicinskt avfall.
- Öppna inte ett kassetlock förrän du är klar att genomföra testningen.

10 Kemiskt farliga ämnen^{17,18}

- FN GHS faropiktogram: 
- Signalord: VARNING
- FN GHS riskuttalande
 - Skadligt vid förtäring
 - Irriterar huden
 - Orsakar allvarlig ögonirritation
- FN GHS skyddsangivelser
 - Förebyggande

- Tvätta grundligt efter användning.
- Ät inte, drick inte och rök inte när du använder produkten.
- Undvik utsläpp till miljön.
- Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd
- **Svar**
 - VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.
 - Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen.
 - Särskild behandling, se kompletterande information om första hjälpen.
 - Vid hudirritation: Sök läkarhjälp.
 - VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.
 - Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp
 - VID FÖRTÄRING: Vid obehag, kontakta omedelbart GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
 - Skölj munnen.
- **Förvaring/kassering**
 - Avyttra innehållet och/eller behållaren i enlighet med lokala, regionala, nationella och/eller internationella förordningar.

11 Provinsamling, transport och förvaring

Svabbprov från hud- och mjukvävnadsinfektioner kan tas med Cepheid provinsamlingsenhet enligt rutinmetoder på användarens institution. Svabbproven placeras tillbaka i transportröret av plats (flytande Stuarts-medium, Cepheid provinsamlingsenhet eller rekommenderad Copan), förvaras vid rumstemperatur och skickas till GeneXpert testområde för bearbetning före slutet av följande dag. Förvara kvarvarande otestad svabb för mikrobiologisk odling i lämpligt transportsystem och odla inom 4 dagar. Om det inte skickas innan slutet på nästa dag måste provet transporteras på is. Alternativt kan svabbar förvaras vid 2–8 °C för testning i upp till 5 dagar.

12 Mikrobiologisk odling

För SSTI-odlingsmetoder, följ laboratoriets gällande standardmetoder. För odling bör kvarlämnade icke-testade svabbprov placeras i lämpliga transportsystem och odlas inom 4 dagar.

13 Metod

13.1 Förbereda kassetten

Viktigt Starta testet inom 15 minuter från det att reagenserna tillsatts till kassetten.

Hur man adderar provet och elueringsreagensen till kassetten:

1. Ta ut kassetten och en elueringsreagens ur förpackningen.
2. Ta ut svabben från transportbehållaren.

Anm Använd gasväv vid hantering av svabben för att minimera kontamineringsrisken.

3. För in svabben i röret som innehåller elueringsreagensen och bryt av svabben.
4. Stäng locket på flaskan med elueringsreagens och vortexa vid hög hastighet under 10 sekunder.
5. Öppna kassetten lock. Med användning av en steril transferpipett, överför hela innehållet av elueringsreagensen till GeneXpert MRSA/SA SSTI-kassetten provkammare.
6. Stäng locket till kassetten.



Figur 1. Xpert MRSA/SA SSTI-kassetten (vy ovanifrån)

13.2 Starta testen

Viktigt Innan du startar testet ska du försäkra dig om att Xpert MRSA/SA SSTI assay definition file har importerats in i mjukvaran.

Detta avsnitt listar standardstegen för att använda GeneXpert-instrumentsystemet. Detaljerade anvisningar finns i *GeneXpert Dx-systemets användarmanual*, eller *GeneXpert Infinity-systemets användarmanual*.

1. Sätt på GeneXpert -instrumentsystemet:

Anm De steg som du följer kan skilja sig åt om systemadministratören har ändrat systemets standardarbetsflöde.

- Om du använder GeneXpert Dx-instrumentet, sätt först på instrumentet och sedan datorn. GeneXpert-mjukvaran startar automatiskt eller kan kräva en dubbelklickning på GeneXpert Dx-mjukvarans genvägsikon på Windows®-arbetsbordet.
eller
 - Om du använder GeneXpert Infinity-instrumentet, starta instrumentet. GeneXpert-mjukvaran startar automatiskt eller kan kräva en dubbelklickning på Xpertise-mjukvarans genvägsikon på Windows®-arbetsbordet.
2. Logga in på GeneXpert -instrumentsystemets mjukvara med användning av ditt användarnamn och lösenord
 3. I GeneXpert -systemfönstret, klicka på **Skapa test (Create Test)**. (GeneXpert Dx) eller **Beställningar** och **Beställa test** Infinity. Fönstret Skapa test (Create Test) öppnas.
 4. Skanna in Patient-ID (Patient ID) (valfritt). Om du skriver in Patient-ID (Patient ID), se till att du skriver in det rätt. Patient-ID (Patient ID) associeras med testresultaten och visas i fönstret Granska resultat (View Results).
 5. Skanna eller skriv in Prov-ID (Sample ID). Om du skriver in Prov-ID (Sample ID), se till att du skriver in det rätt. Prov-ID (Sample ID) associeras med testresultaten och visas i fönstret Granska resultat (View Results).
 6. Skanna streckkoden på Xpert MRSA/SA SSTI-kassetten. Mjukvaran fyller automatiskt i rutorna i de följande fälten med hjälp av streckkodsinformation: Välj assay (Select Assay), reagenslot-ID (Reagent Lot ID), kassetten serienummer (Cartridge SN) och utgångsdatumet (Expiration Date).

Anm Om streckkoden på Xpert MRSA/SA SSTI-kassetten inte skannas, upprepa testet med en ny kassett.

7. Klicka på **Starta test (Start Test)**. (GeneXpert Dx) eller **Skicka in (Submit)** Infinity. Skriv in ditt lösenord i den visade dialogrutan.
8. För GeneXpert Infinity-systemet ska kassetten placeras på transportbandet. Kassetten kommer automatiskt att laddas, testet kommer att köras och den använda kassetten kommer att placeras i avfallsbehållaren.
eller

För GeneXpert Dx-instrumentet:

- a. Öppna instrumentmodulens dörr med den blinkande gröna lampan och ladda kassetten.
- b. Stäng dörren. Testet startas och den gröna lampan slutar att blinka. När testen är klar slutar lampan att lysa.

- c. Vänta tills systemet frigör dörregeln innan du öppnar moduldörren och tar ut kassetten.
- d. De använda kassetterna ska kasseras i lämpliga avfalls.

14 Granska och skriva ut resultat

För flera detaljerade anvisningar om hur man granskar och skriver ut resultat, se *GeneXpert Dx-systemets användarmanual* eller *GeneXpert Infinity-systemets användarmanual*.

1. Klicka på ikonen för att granska resultat.
2. När testet är slutfört, klicka på **knappen Rapport (Report)** i fönstret Granska resultat (View Results) för att visa och/eller generera en rapportfil i PDF-format.

15 Kvalitetskontroll

15.1 Inbyggda kvalitetskontroller

Varje test inkluderar en sample processing control (SPC eller BG3 på skärmen för resultatvisning för användare på administrativ nivå) och probe check kontroll (PCC).

- **Sample processing control (SPC)** – Ser till att provet bearbetades korrekt. SPC innehåller sporer från *Bacillus globigii* i form av en torr sporkaka som ingår i varje kassett för att verifiera adekvat bearbetning av Xpert MRSA/SA SSTI-testprovet. SPC verifierar att lysering av *Staphylococcus aureus* har inträffat om organismerna förekommer och verifierar att probbearbetningen är tillfredsställande. Dessutom detekterar denna kontroll provassocierad inhibering av realtids-PCR-assayen, säkerställer att PCR-reaktionens förhållanden (temperatur och tid) är lämpliga för amplifieringsreaktionen och att PCR-reagenserna fungerar. SPC ska vara positivt i ett negativt prov och kan vara negativt eller positivt i ett positivt prov. SPC godkänns om det uppfyller validerade acceptanskriterier.
- **Probe check kontroll(PCC)** – Före start av PCR-reaktionen, mäter GeneXpert-systemet fluorescenssignalen från proberna för att övervaka rehydreringen av kulan, fyllningen av reaktionsröret, probintegriteten och färgens hållbarhet. Probekontrollen godkänns om den uppfyller de tilldelade acceptanskriterierna.

15.2 Externa kontroller

KWIK-STIKs (Microbiologics, katalognr 0158 MRSA [SCC*mec* typ II] och katalognr 0360 SA som positiva kontroller och katalognr 0371 MSSE som negativ kontroll) kan användas för utbildning, färdighetstestning och extern QC av GeneXpert-systemet. MRSA/stammar som representerar andra SCC*mec*/typer, om tillgängliga, kan användas som ytterligare externa positiva kontroller för att övervaka assayprimrar och -prober som inte direkt kontrolleras i assayen. Externa kontroller kan användas i enlighet med godkända institutioner och förordningar från beslutande organ. Följ Microbiologics externa kontrollmetod som beskrivs nedan:

1. Riv upp påsen vid skåran och ta ut KWIK-STIK.
2. Kläm ampullens botten i korken för att frigöra hydratiseringsvätska.
3. Håll lodrätt och slå lätt för att underlätta flödet av vätska genom skافتet in till pelleten på enhetens botten.
4. För att underlätta upplösningen av den lysofiliserade cellpelletten, krossa pelletten och kläm försiktigt på kammarbotten.
5. Dra isär KWIK-STIK för att frilägga provpinnen och för in provpinnen i röret som innehåller elueringsreagens (skruvkork).
6. KWIK-STIK-svabben är nu klar för testning med Xpert MRSA/SA SSTI-testet.
7. Om en extern QC inte fungerar som förväntat, upprepa det externa kontrolltestet och/eller kontakta Cepheid för hjälp.

Exempel på Xpert MRSA/SA SSTI-testresultat visas i Figur 2 till Figur 5.

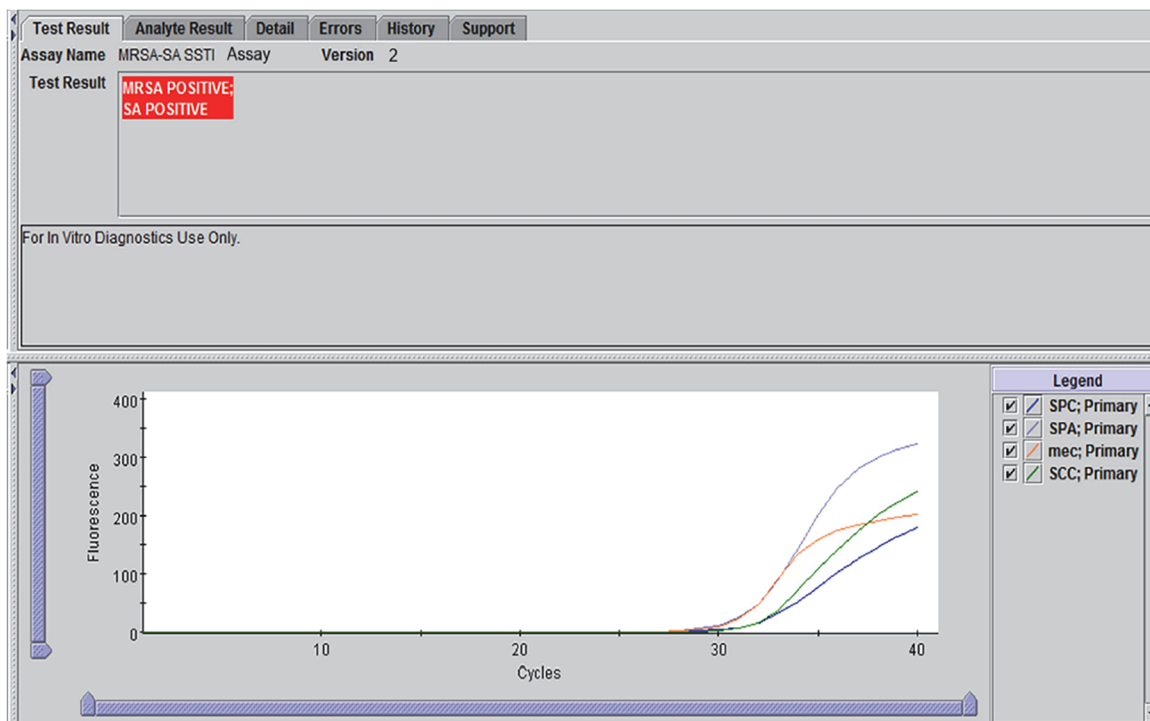
16 Tolkning av resultat

Resultaten interpoleras av GeneXpert-systemet från uppmätta fluorescenssignaler och inneslutna beräkningsalgoritmer och kommer att visas i fönstret Granska resultat (View Results). Möjliga resultat är:

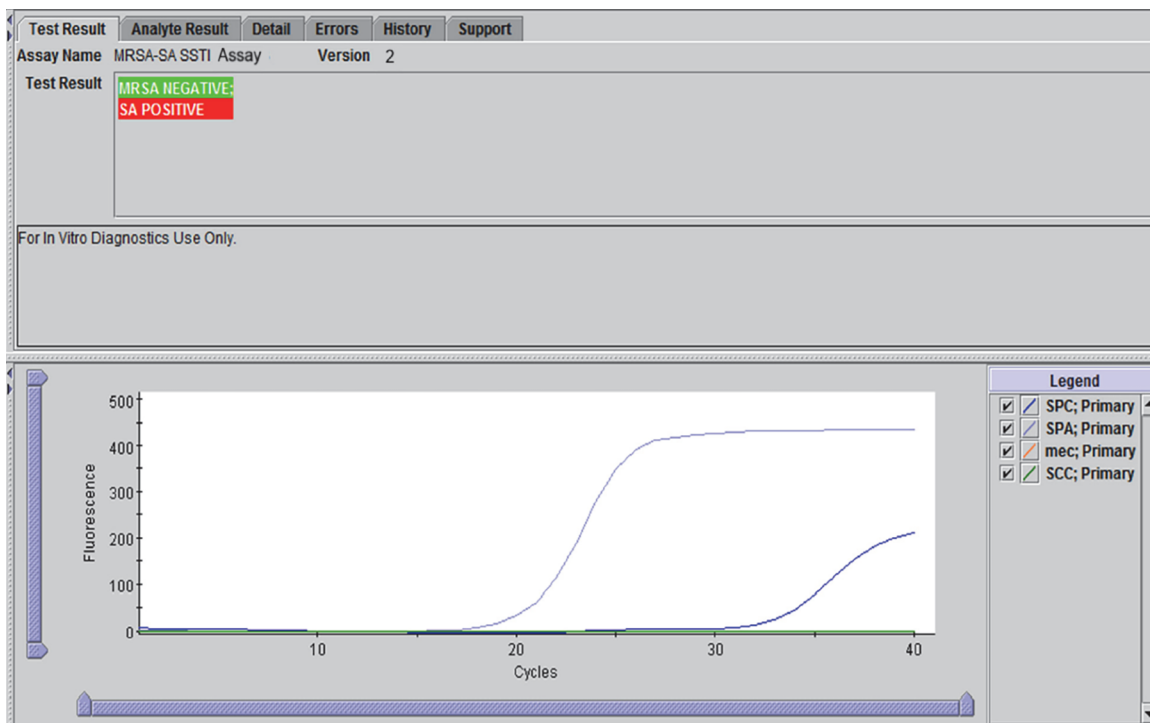
Tabell 1. Resultat och tolkning av MRSA/SA SSTI

Resultat	Tolkning
MRSA POSITIV (POSITIVE)/ SA POSITIVE (POSITIVE) Figur 2	<p>Xpert MRSA/SA SSTI-testet kan detektera MRSA- och/eller SA-DNA från icke-viabra organismer.</p> <p>DNA-målsekvenser för MRSA har detekterats. DNA-målsekvens för SA har detekterats.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA-POSITIV (MRSA POSITIVE)– Alla MRSA-mål (<i>spa</i>, <i>mecA</i> och <i>SCCmec</i>) har en cykeltröskel inom giltigt intervall och en slutpunkt över minimiinställningen. • SPC – Inte tillämpligt (NA); SPC ignoreras eftersom MRSA-amplifiering kan konkurrera med denna kontroll. • Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända.
MRSA NEGATIV (NEGATIVE)/SA POSITIV (POSITIVE) Figur 3	<p>Xpert MRSA/SA SSTI-testet kan detektera MRSA- och/eller SA-DNA från icke-viabra organismer.</p> <ul style="list-style-type: none"> • DNA-målsekvenser för MRSA har inte detekterats. DNA-målsekvens för SA har detekterats. • SA POSITIV (POSITIVE) – SA-målet (<i>spa</i>) har en Ct inom det giltiga intervallet och slutpunkt över minimiinställningen. DNA-mål för <i>SCCmec</i> har inte detekterats, mål-DNA för <i>mecA</i> har eller har inte detekterats, eller mål-DNA för <i>SCCmec</i> har detekterats och mål-DNA för <i>mecA</i> har inte detekterats ("tom kassett"). • SPC – Inte tillämpligt (NA); SPC ignoreras eftersom SA-amplifiering kan konkurrera med denna kontroll. • Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända. <p>Ett positivt testresultat indikerar inte nödvändigtvis närvaron av livskraftiga organismer. Det är emellertid presumtivt för förekomst av MRSA eller SA.</p>
MRSA NEGATIV (NEGATIVE)/SA NEGATIV (NEGATIVE) Figur 4	<p>DNA-målsekvensen för <i>Staphylococcus aureus</i> har inte detekterats. SPC uppfyller inte acceptanskriterierna.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NEGATIV (NEGATIVE) — DNA-målet för <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>spa</i>) har inte detekterats. Mål-DNA för <i>mecA</i> har eller har inte detekterats, eller mål-DNA för <i>SCCmec</i> har eller har inte detekterats. • SPC – GODKÄND (PASS); SPC har en Ct inom giltigt intervall och slutpunkten över minimiinställningen. • Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända. <p>Ett falskt negativt resultat för MRSA (ett resultat med MRSA NEGATIVT (MRSA NEGATIVE); SA POSITIV (SA POSITIVE)) kan erhållas om både MRSA och SA förekommer i provet med ett MRSA:SA-förhållande på 1:1x10⁶ eller större.</p> <p>I de kliniska studierna hade 5 av 246 MRSA-positiva odlingar blandinfektioner av MRSA och SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifierade 3 av 5 blandinfektioner som MRSA-positiva och 2 av 5 som SA-positiva/MRSA-negativa.</p>

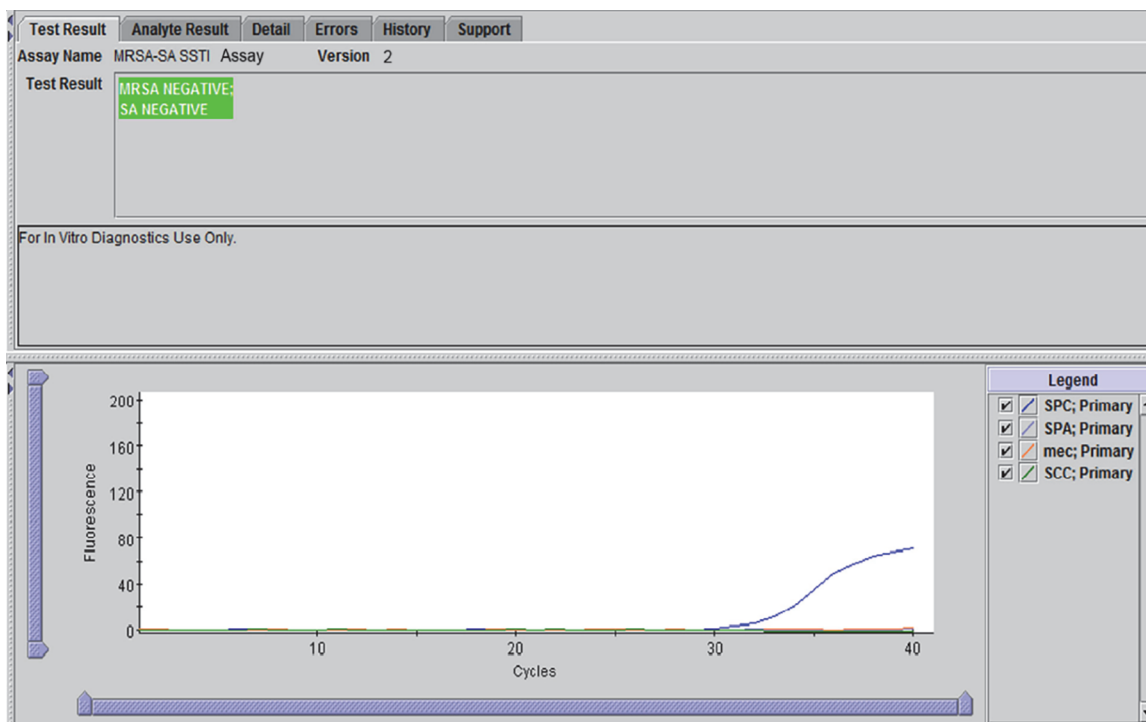
Resultat	Tolkning
OGILTIG (INVALID) Figur 5	<p>Närvaro eller frånvaro av DNA-målssekvenser för MRSA/SA kan inte fastställas. Upprepa testet enligt anvisningarna i avsnittet nedan. SPC uppfyller inte acceptanskriterierna, provet bearbetades inte korrekt eller PCR var hämmad.</p> <ul style="list-style-type: none"> • OGILTIGT (INVALID) – förekomst eller frånvaro av <i>Staphylococcus aureus</i> DNA kan inte fastställas. • SPC EJ GODKÄND (FAIL) – SPC-målresultatet är negativt och SPC Ct ligger inte inom giltig intervall och slutpunkten är under minimuminställningen. • Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända.
FEL (ERROR)	<p>Närvaro eller frånvaro av DNA-målssekvenser för MRSA/SA kan inte fastställas. Upprepa testet enligt anvisningarna i avsnittet nedan. Probe check kontroll misslyckades antagligen på grund av att reaktionsröret fylldes felaktigt, ett probintegritetsproblem detekterades, eller att maximala tryckgränserna överskreds.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA – INGET RESULTAT (NO RESULT) • SA – INGET RESULTAT (NO RESULT) • SPC – INGET RESULTAT (NO RESULT) • Probcheck – EJ GODKÄND (FAIL*), ett eller flera av probcheckkontrollresultaten är ej godkända. <p>* Om probekontrollen är godkänd orsakas felet av ett systemkomponentfel.</p>
INGET RESULTAT (NO RESULT)	<p>Närvaro eller frånvaro av DNA-målssekvenser för MRSA/SA kan inte fastställas. Upprepa testet enligt anvisningarna i avsnittet nedan. Otillräckligt med data har samlats in för att ett testresultat ska kunna produceras. Till exempel kan detta hända när användaren stoppade ett test som kördes.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA – INGET RESULTAT (NO RESULT) • SA – INGET RESULTAT (NO RESULT) • SPC – INGET RESULTAT (NO RESULT) • Probekontroll – Ej tillämpligt (NA, not applicable)



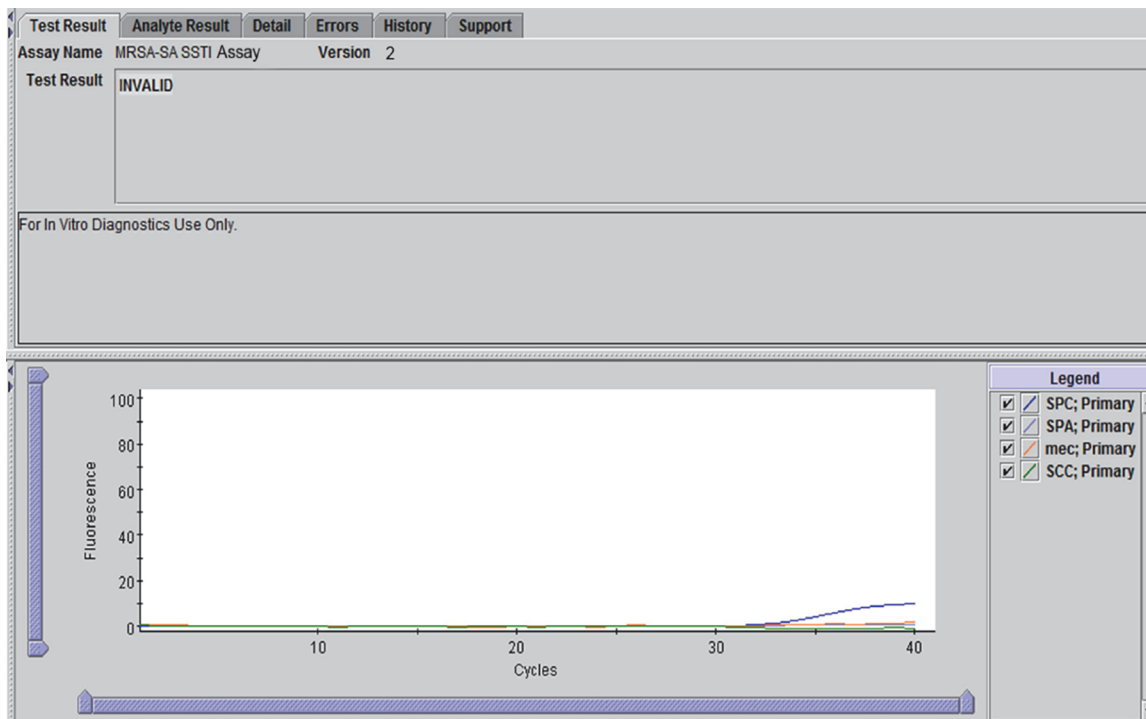
Figur 2. Exempel på ett MRSA-positivt (MRSA Positive)/SA-positivt (SA Positive) resultat



Figur 3. Exempel på ett MRSA-negativt (MRSA Negative); SA-positivt (SA Positive) resultat



Figur 4. Exempel på ett MRSA-negativt (MRSA Negative); SA-negativt (SA Negative) resultat



Figur 5. Ett exempel på ett ogiltigt resultat

17 Anledningar till att upprepa testen

17.1 Anledningar till att upprepa testet

Upprepa testet med en ny kassett (återanvänd inte kassetten) och nya reagenser. Genomför omtestningsmetoden inom 3 timmar av ett obestämt resultat.

- Ett **OGILTIG (INVALID)** resultat tyder på att SPC-kontrollen inte godkändes. Provet bearbetades inte korrekt eller PCR inhiberades.
- Ett **FEL (ERROR)** resultat anger att probe check kontrollen misslyckades och analysen avbröts möjligen på grund av att ett reaktionsrör inte fyllts korrekt, ett integritetsproblem med reagensproben detekterades eller att maximala tryckgränserna överskreds.
- Ett **INGET RESULTAT (NO RESULT)** tyder på att otillräckligt med data insamlades. Till exempel stoppade användaren ett test som kördes.
- Om en extern QC inte fungerar som förväntat, upprepa det externa kontrolltestet och/eller kontakta Cepheid för hjälp.

17.2 Omtestningsmetod

Upprepa testet med en ny kassett (återanvänd inte kassetten) och en ny flaska med elueringsreagens.

För att utföra ett nytt test vid omtestning inom 3 timmar av ett obestämt resultat*:

1. Överför det resterande innehållet från provkammaren till en ny elueringsreagens med en kasserbar transferpipett.
2. Vortexa och tillsätt hela innehållet av elueringsreagensen till provkammaren på den nya MRSA/SA SSTI-testkassetten.
3. Sätt på locket och starta ett nytt test.

* Om ett nytt test inte kan utföras inom 3 timmar, använd ett nytt prov.

18 Begränsningar

- Prestandan av Xpert MRSA/SA SSTI-testet validerades endast med användning av metoderna i denna bruksanvisning. Modifiering av dessa metoder kan ändra testens prestanda. Resultat från Xpert MRSA/SA SSTI-testet ska tolkas tillsammans med andra laboratorieresultat och kliniska uppgifter som är tillgängliga för klinikern.
- Xpert MRSA/SA SSTI-testet kan detektera MRSA- och/eller SA-DNA från icke-viabila organismer. Sannolikheten för att detta inträffar ökar för patienter som använder antibiotika. I den pivotala kliniska studien var frekvensen falskt positiv (jämfört med odling) för detektering av SA hos patienter som tog antibiotika inom 3 veckor före Xpert MRSA/SA-testning 13,8 %. Frekvensen falskt positiv (jämfört med odling) för detektering av MRSA hos patienter som tog antibiotika inom 3 veckor före Xpert MRSA/SA-testning 9,5 %.
- Ett positivt testresultat indikerar inte nödvändigtvis närvaron av livskraftiga organismer. Det är emellertid presumtivt för förekomst av MRSA eller SA.
- Testning med Xpert MRSA/SA SSTI-testet ska användas som ett tillägg till andra tillgängliga metoder.
- Felaktiga testresultat kan uppstå vid felaktig provinsamling, underlåtenhet att följa den rekommenderade provinsamlingsmetoden, hanterings- och förvaringsmetoder, tekniskt fel, sammanblandning av prov eller på grund av att antalet organismer i provet är för lågt för att detekteras av testet. Noggrann följsamhet av instruktionerna i denna bruksanvisning är nödvändig för att undvika felaktiga resultat.
- Eftersom detekteringen av MRSA och SA är beroende av antalet organismer som finns i provet, är pålitliga resultat beroende av korrekt provinsamling, hantering och förvaring.
- Mutationer eller polymorfismer i primer- eller probebindande regioner kan påverka detektering av nya eller okända MRSA-varianter vilket resulterar i ett falskt negativt resultat.
- I prov innehållande både MRSA och SA kanske inte Xpert MRSA/SA SSTI-testet detekterar meticillinresistenta SA-organismer. (I den pivotala kliniska prövningen misslyckades Xpert MRSA/SA SSTI-testet att detektera 2 av 5 MRSA-positiva odlingsprov i fall med dokumenterade blandinfektioner av MRSA/SA.)
- I en blandodling varierar analytisk LoD för MRSA när det förekommer extremt höga koncentrationer av SA. Konkurrens från SA sågs vid ett MRSA:SA-förhållande på 1:1x10⁶. I de kliniska studierna hade 5 av 246 MRSA-positiva odlingar blandinfektioner av MRSA och SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifierade 3 av 5 blandinfektioner som MRSA-positiva och 2 av 5 som SA-positiva/MRSA-negativa.
- Inhibering av MRSA/SA SSTI-testet har observerats med följande substanser: StaphA⁺ septisk (5 % vikt/voly), hydrokortison (5 % vikt/voly) och antibakteriell handsprit (5% vikt/voly).

- Prov innehållande merbromin kan inte användas på grund av dess fluorescerande egenskap.
- Xpert MRSA/SA SSTI-testet kan generera ett falskt positivt MRSA-resultat vid testning av ett SSTI-blandinfektionsprov som innehåller både meticillinresistenta koagulasnegativa *Staphylococcus* (MRCNS) och tom kassett med meticillinkänsliga *Staphylococcus aureus* SA.
- På grund av spädningsfaktorn förknippad med omtestningsmetoden är det möjligt att MRSA- eller SA-positiva prov, mycket nära eller vid detektionsgränsen (LoD) för Xpert MRSA/SA SSTI-testet, kan resultera i ett falskt negativt resultat vid omtestning.

19 Interfererande substanser

I den undersökande studien av Xpert MRSA/SA SSTI-testet observerades 428 av 848 prov innehålla blod och 404 observerades innehålla andra ej specifika substanser som skulle kunna interferera med assayen (observera att vissa prov innehöll mer än en typ av potentiell kontaminant). Fishers exakta test genomfördes på data som genererades från pinnprovtagning med och utan dessa potentiella interfererande substanser, vilket påvisade att förekomsten av dem inte påverkade testets prestanda.

I en icke-klinisk studie utvärderades potentiellt interfererande substanser som kan förekomma i kliniska prov från hud- och mjukvävnadsinfektion direkt i förhållande till prestandan för Xpert MRSA/SA SSTI-testet. Potentiellt interfererande substanser i hud- och mjukvävnadsinfektioner kan omfatta, men är inte begränsade till: blod, var, plasma, salva för lokalbehandling (antibiotika/antiseptiska/smärtlindring), debrideringsmedel och tinkturer. Dessa substanser anges i listan i Tabell 2 och Tabell 3 med aktiva ingredienser och testade koncentrationer som visas. Inhibering av MRSA/SA SSTI-testet har observerats med följande substanser: StaphA antiseptisk (5 % vikt/volym), hydrokortison (5 % vikt/volym) och antibakteriell handsprit (5% vikt/volym).

Prov innehållande merbromin kan inte användas på grund av dess fluorescerande egenskap.

Tabell 2. Testade potentiellt interfererande SSTI-substanser

Substans	Aktiv ingrediens	% testade
TET-buffert	Kontroll	Kontroll
Buffy Coat (lättcellskoncentrat från ärrsurrogat)	LPK (1,5e9/ml)	50 % volym/volym (v/v)
Helblod (MRSA-/SA-fritt)	Inte tillämplig (N/A)	50 % volym/volym (v/v)
Plasma	Inte tillämplig (N/A)	50 % volym/volym (v/v)
Neosporin	400 enheter Bacitracin 5 000 enheter polymyxin B 3,5 mg neomycin	1 % och 5 % (vikt/volym)
StaphA*septisk	0,2 % benzetoniumklorid, 2,5 % lidokain-HCl	1 % och 5 % (vikt/volym)
Hydrokortison	1 % hydrokortison	1 % och 5 % (vikt/volym)
Boil-Ease	20 % bensokain	1 % och 5 % (vikt/volym)
Jodtinktur	2 % jod	50 % volym/volym (v/v)

Tabell 3. Testade potentiellt interfererande SSTI-substanser

Substans	Aktiv ingrediens	% testade
TET-buffert (kontroll)	Kontroll	Kontroll
Mupirocin	0,2 % benzetoniumklorid 2,5 % lidokain-HCl	5 % (vikt/volym)
Helblod (MRSA-/SA-fritt)	Inte tillämplig (N/A)	50 % volym/volym (v/v)
Koksallösning	0,65 % natriumklorid	50 % volym/volym (v/v)

Substans	Aktiv ingrediens	% testade
Antibakteriell handsprit	62 % etylalkohol	1 % och 5 % (vikt/volym)
70 % isopropylalkohol	70 % isopropylalkohol	50 % volym/volym (v/v)

20 Förväntade värden

I den kliniska Xpert MRSA/SA SSTI-studien inkluderades totalt 848 SSTI-prov från fyra stora sjukhus i USA. Antalet och procentandelen positiva fall av referensodlingsmetoden, beräknat efter åldersgrupp visas, i Tabell 4.

Tabell 4. Observerad prevalens för MRSA och SA efter odling

Åldersgrupp	Totalt N	MRSA efter odling		SA efter odling	
		Antal positiva	Observerad prevalens	Antal positiva	Observerad prevalens
Ålder mindre än 3	34	11	32,4 %	21	61,8 %
Ålder 3 till 18	100	25	25,0 %	55	55,0 %
Ålder 19 till 65	614	188	30,6 %	300	48,9 %
Ålder 66 och äldre	100	22	22,0 %	35	35,0 %

21 Prestanda och egenskaper

21.1 Klinisk prestanda

Prestanda och egenskaper för Xpert MRSA/SA SSTI-testet bestämdes i en prospektiv undersökande multicenterstudie vid fyra institutioner i USA där man jämförde Xpert MRSA/SA SSTI-testet med en referensodling. Försökspersoner omfattade individer vars rutinvård påkallade insamling av en svabb för odling från patientens hud och infektionen i mjukvävnaden.

Dubbla svabbar samlades in från varje patient. En svabb testades av Xpert MRSA/SA SSTI-testet vid värvningscentret och den andra svabben testades med ställets standardmetod och det resterande provet skickades till centrallaboratoriet för testning med referensodling.

Vid centrallaboratoriet berikades provet över natten i tryptikassojabuljong med 6,5 % NaCl. Tryptikassojabuljongen ströks sedan på plattor med cefoxitin (för MRSA) och utan cefoxitin (för SA). Om endera eller båda SA- eller MRSA-plattorna visade presumtiva *S. aureus*-kolonier, subodlades kolonierna på en blodagarplatta. Bekräftelse av presumtiva positiva kolonier utfördes med katalas, rörhoagulas och gramfärgning. *MecA*-medierad oxacillinresistens testades genom diskdiffusionstest med användning av en 30 µg cefoxitindisk och cutoff på 21/22 mm. Om odlingarna för båda SA- och MRSA-plattorna bestämdes vara negativa, subodlades den lagrade tryptikassojabuljongen med 6,5 % NaCl på blodagar följt av undersökning avseende SA/MRSA som beskrivits tidigare.

Prestandan för Xpert MRSA/SA SSTI-testet beräknades i förhållande till referensodlingsresultaten.

21.2 Totalresultat

Totalt 848 prov testades för MRSA och SA av Xpert MRSA/SA SSTI-testet och odling.

Bland de 848 fallen i det lämpliga datasetet rapporterades antibiotikaanvändning inom 3 veckor före provtagningen hos 207 patienter och ingen antibiotikaanvändning bekräftades för 441 patienter. I 200 fall var antibiotikastatus okänd. En statistiskt signifikant minskning i positivitetsfrekvensen för SA med hänsyn till odlingsresultaten sågs när antibiotika användes ($p = 0,007$). Detta fenomen har också rapporterats i litteraturen.^{10, 11, 12, 13, 14} MRSA-positivitetsfrekvensen för odling minskade också, fastän i mindre utsträckning ($p = 0,022$). Minskningen i positivitet sågs inte med Xpert MRSA/SA SSTI-testet när antibiotika användes och inte heller sågs någon inhibering i assayen vid förekomsten av lokal antibiotikabehandling (se avsnitt 20 Interfererande substanser). De minskade odlingspositivitetsfrekvenserna för MRSA och SA vid förekomsten av antibiotika orsakade de högre än förväntade frekvenser av falskt positiv med Xpert MRSA/SA SSTI-testet.

Fem av 246 MRSA-positiva odlingar hade blandinfektioner av MRSA och SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifierade 3 av 5 blandinfektioner som MRSA-positiva och 2 av 5 som SA-positiva/MRSA-negativa.

Prestandan av Xpert MRSA/SA SSTI-testet sammanfattas i Tabell 5 till Tabell 7.

Tabell 5. MRSA/SA-prestanda hos individer med ingen antibiotikaanvändning (inom 3 veckor före provinsamling) kontra referensodling

Odling				
	MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/ingen påväxt	Total
MRSA+	137 ^a	2	6	145
SA+/MRSA-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Total	146	85	210	441

^a 1 av 137 var en blandinfektion av MRSA och SA.

^b 2 av 3 var blandinfektioner av MRSA och SA.

Positiv procentuell överensstämmelse (MRSA+) = 93,8; 95 % konfidensintervall = 88,6–97,1

Negativ procentuell överensstämmelse (MRSA+) = 97,3; 95 % konfidensintervall = 94,7–98,8

Positiv procentuell överensstämmelse (SA/MRSA+) = 95,7; 95 % konfidensintervall = 92,2–97,9

Negativ procentuell överensstämmelse (SA/MRSA+) = 89,5; 95 % konfidensintervall = 84,6–93,3

Bland individer med ingen antibiotikaanvändning 3 veckor före provinsamling identifierar Xpert MRSA/SA SSTI-testet 93,8 % av proven positiva för MRSA och 97,3 % av proven negativa för MRSA jämfört med referensodlingsmetoden och 95,7 % av proven positiva för SA och 89,5 % av proven negativa för SA jämfört med referensodlingsmetoden.

Bland dessa individer med ingen antibiotikaanvändning var 96,8 % (427/441) lyckade vid det första försöket med Xpert MRSA/SA SSTI-testet. De återstående 14 gav obestämda resultat vid det första försöket (6 **OGILTIG (INVALID)**, 7 **FEL (ERROR)** och 1 **INGET RESULTAT (NO RESULT)**). Av 14 obestämda vid det första försöket, gav alla ett resultat vid det andra försöket.

Tabell 6. MRSA/SA-prestanda hos individer med okänd antibiotikaanvändning (inom 3 veckor av provinsamling) kontra referensodling

Odling					
	MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/ingen påväxt	Total	
Xpert	MRSA+	47 ^a	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Total	50	47	103	200

^a 2 av 47 var blandinfektioner av MRSA och SA

Positiv procentuell överensstämmelse (MRSA+) = 94,0; 95 % konfidensintervall = 83,5–98,7

Negativ procentuell överensstämmelse (MRSA+) = 97,3; 95 % konfidensintervall = 93,3–99,3

Positiv procentuell överensstämmelse (SA/MRSA+) = 96,9; 95 % konfidensintervall = 91,2–99,4

Negativ procentuell överensstämmelse (SA/MRSA+) = 88,3; 95 % konfidensintervall = 80,5–93,8

När det var okänt om individer tog antibiotika inom 3 veckor före provinsamling identifierade Xpert MRSA/SA SSTI-testet 94,0 % av proven positiva för MRSA och 97,3 % av proven negativa för MRSA jämfört med referensodlingsmetoden och 96,9 % av proven positiva för SA och 88,3 % av proven negativa för SA jämfört med referensodlingsmetoden.

Bland dessa individer med okänd antibiotikaanvändning var 97,0 % (194/200) lyckade vid det första försöket med Xpert MRSA/SA SSTI-testet. De återstående 6 gav obestämda resultat vid det första försöket (2 **OGILTIG (INVALID)**, 3 **FEL (ERROR)** och 1 **INGET RESULTAT (NO RESULT)**). Av 6 obestämda vid det första försöket, gav alla ett resultat vid det andra försöket.

Tabell 7. MRSA/SA-prestanda hos individer med känd antibiotikaanvändning (inom 3 veckor av provinsamling) kontra referensodling

		Odling			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/ingen påväxt	Total
Xpert	MRSA+	44	2	10	56
	SA+/MRSA-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Total	50	34	123	207

Positiv procentuell överensstämmelse (MRSA+) = 88,0; 95 % konfidensintervall = 75,7–95,5

Negativ procentuell överensstämmelse (MRSA+) = 92,4; 95 % konfidensintervall = 87,0–96,0

Positiv procentuell överensstämmelse (SA+/MRSA+) = 95,2; 95 % konfidensintervall = 88,3–98,7

Negativ procentuell överensstämmelse (SA+/MRSA+) = 76,4; 95 % konfidensintervall = 67,9–83,6

Bland individer med känd antibiotikaanvändning inom 3 veckor före provinsamling identifierade Xpert MRSA/SA SSTI-testet 88,0 % av proven positiva för MRSA och 92,4 % av proven negativa för MRSA jämfört med referensodlingsmetoden och 95,2 % av proven positiva för SA och 76,4 % av proven negativa för SA jämfört med referensodlingsmetoden.

Bland dessa individer med antibiotikaanvändning var 96,1 % (199/207) lyckade vid det första försöket med Xpert MRSA/SA SSTI-testet. De återstående 8 gav obestämda resultat vid det första försöket (5 **OGILTIG (INVALID)** och 3 **FEL (ERROR)**). Av 8 obestämda vid det första försöket, gav alla ett resultat vid det andra försöket.

21.3 Varianter med tom kasset

För att ett isolat ska identifieras som MRSA-positivt med Xpert MRSA/SA SSTI-testet måste testet för *spa* vara positivt liksom testet för *mecA* och *SCCmec*. Ett isolat som är positivt för *spa* och *SCCmec*, men inte *mecA* rapporteras som SA, eftersom det kommer att vara meticillinkänsligt. Denna situation kan uppstå när andelen *SCCmec* element som bär *mecA* är bortskuren men ändarna av detta mobila element är kvar, vilket ger en positiv *SCCmec*-signal. Dessa isolat kallas ibland varianter med ”tom kasset” och är inte ovanliga i kliniska sammanhang. Betydelsen för dessa isolat är att potentiellt föra in en assay för MRSA som inte detekterar *mecA*-genen direkt. Xpert MRSA/SA SSTI-testet utformades för att identifiera dessa varianter korrekt som SA.

Bland de inkluderade proven i dataanalyserna som fanns med i denna rapport fanns det totalt 16 isolat för profilen tom kasset som resulterade i positiva testresultat för *spa* och *SCCmec*-testresultat men ingen *mecA*-detektion (Ct = 0). Detta visas i Tabell 8. Femton (15) av sexton (16) verifierades som sant negativa MRSA-isolat jämfört med odling och 14 av 16 verifierades som sant positiva SA-isolat i förhållande till odling. Ett isolat identifierades som MRSA genom odling och två (2) var både MRSA- och SA-negativa med odling.

Tabell 8. Prestanda för MRSA/SA SSTI jämfört med referensodling – varianter med tom kasset

Patient nr #	Xpert-resultat	spa (Ct)	mecA (Ct)	SCCmec (Ct)	Odling	Xpert jämfört med odling	
						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	Neg	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	Neg	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 Analytisk prestanda

22.1 Analytisk specificitet (korsreaktivitet)-studie

Ett hundra fem (105) stammar insamlades, kvantifierades och testades med Xpert MRSA/SA SSTI-testet. De 98 odlingarna från American Type Culture Collection (ATCC) och 7 stammar från Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA) representerar species som är fylogentiskt relaterade till *Staphylococcus aureus* eller dem som potentiellt kan påträffas i en sjukhusmiljö.

Av dessa inkluderades meticillin känsliga koagulasnegativa stafylokocker (29) och meticillinresistenta koagulasnegativa stafylokocker (9). De testade organismerna identifierades antingen som grampositiva (74), gramnegativa (28) eller jästsvampar (3). Organismerna klassificerades ytterligare som antingen aeroba (95) eller anaeroba (10).

Två (2) eller fler replikat för varje isolat testades vid 1,7–3,2 McFarland-enheter. Enligt studiens villkor rapporterades alla isolat som MRSA-negativa och SA-negativa. Inga av isolaten detekterades av Xpert MRSA/SA SSTI-testet. Positiva och negativa kontroller ingick i studien. Den analytiska specificiteten var 100 %.

22.2 Utveckling av BORSA-stammar

Sju (7) välkarakteriserade gränsfall oxacillinresistenta stammar av *Staphylococcus aureus* (BORSA)-stammar testades, inklusive en uppenbar ”tom kasset” (se ovan). Meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* är resistenta mot alla β -laktamläkemedel genom det alternativa penicillinbindande proteinet PBP2a som kodas med *mecA*¹⁵. BORSA-stammar är *mecA*-negativa men uppvisar en minsta inhiberande koncentration (MIC) för oxacillin på ≥ 2 och ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$. Det är speciellt värdefullt att skilja MRSA från BORSA för att förhindra onödig och olämplig användning av vankomycin och försiktighetsåtgärder avseende isolering som inte är motiverade för patienter som är infekterade med en β -laktammottaglig stam¹⁶.

Enligt villkoren för denna studie rapporterades alla 7 BORSA-isolaten (inklusive det uppenbara ”tom kasset”-isolatet) som rapporterades som MRSA-negativa/SA-positiva vid både höga och låga cellkoncentrationer med användning av Xpert MRSA/SA SSTI-testet. Inga *mecA*-signaler rapporterades. Dessa resultat påvisar att en BORSA-stam identifieras korrekt som MRSA-negativ/SA-positiv och rapporteras inte som ett falskt positivt MRSA-testresultat med Xpert MRSA/SA SSTI-testet.

22.3 Analytisk sensitivitet

Studier av detektionsgräns

Studier har utförts för att fastställa 95 % konfidensintervall för den analytiska detektionsgränsen (LoD) för *Staphylococcus aureus* (SA)-celler och meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA)-celler som späts ut i en ärrsurrogatmatris av humant ursprung. Ärrsurrogatmatrisen bestod av ett cellkoncentrat av vita celler (LPK) som preparerats från helblod genom centrifugering. Matrisen innehöll även röda blodceller (EPK) och plasma samt en försumbar mängd antikoagulantia (CPD eller CPDA-1). Detektionsgränsen definieras som det lägsta antalet kolonibildande enheter (CFU) per prov som kan reproducibart skiljas från negativa prov med 95 % konfidens eller den lägsta koncentrationen vid vilken 19 av 20 replikat var positiva.

För MRSA utvärderades replikat om 20 vid olika testade MRSA-koncentrationer (CFU/svabb) för sex (6) individuella isolat som representerar SCC*mec*-typerna I, II, III, IVa, V och VI. Den vanligaste sjukvårdsförvärvade stammarna som karakteriserades med pulsfältgelelektrofores (PFGE) var USA100. USA400 var en av de vanligaste samhällsförvärvade stammarna.

För SA utvärderades replikat om 20 vid varje SA-koncentration (CFU/svabb) för tre (3) olika individuella SA-isolat. USA-typerna USA900 och USA1200 fanns representerade.

Uppskattningen och konfidensintervallen fastställdes med användning av logistisk regression med data (antal positiva resultat per antal test på varje nivå) över intervallet för CFU/pinnprov som testades. Konfidensintervallen bestämdes med användning av maximala sannolikhetsuppskattningar av de logistiska modellparametrarna med användning av den stora provvarians-kovariansmatrisen. Uppskattningar av LoD-punkten och 95 % övre och nedre konfidensintervall för varje SA-typer och varje MRSA SCC*mec*-typ som testats sammanfattas i Tabell 9 och Tabell 10.

Tabell 9. 95 % konfidensintervall för analytisk LoD – SA

SA-stam-ID	PFGE	LoD (CFU/svabb)	Nedre 95 % KI	Övre 95 % KI
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	okänd	123	97	188

Tabell 10. 95 % konfidensintervall för analytisk LoD – MRSA

MRSA-stam-ID	SCC <i>mec</i> -typ	PFGE	LoD (CFU/svabb)	Nedre 95 % KI	Övre 95 % KI
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	okänd	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Resultaten i denna studie anger att Xpert MRSA/SA SSTI-testet kommer att ge ett positivt SA-resultat 95 % av tiden med 95 % konfidens för en ärrsvabb innehåller 150 CFU och ett positivt MRSA-resultat 95 % av tiden med 95 % konfidens för en ärrsvabb som innehåller 300 CFU.

Ett hundra tjuogoett (121) ytterligare *Staphylococcus aureus*-stammar testades med Xpert MRSA/SA SSTI-testet. Odlingar över natt odlades i Brain Heart Infusion (BHI)-medium och justerades till 0,5 McFarland-enheter. Alla stammar testades i tripliket med 100 µl från odlingar ytterligare spädda 100 000-fald till en (1) miljon gånger.

MRSA (78) och SA-stammar (43) valdes ut för att i stort sett omfatta hela raden av genetisk mångfald som påträffas i species *Staphylococcus aureus* baserat på fylogenetisk struktur. Urvalen representera primära härstamningar med betoning på specifika klonkomplex inom vilka MRSA huvudsakligen observeras. Härstamningar som innehöll MRSA och SA, liksom även dem som innehöll enbart SA inkluderades.

Xpert MRSA/SA SSTI-testet identifierade korrekt 116 av 121 stammar. De fem (5) diskordanta resultaten karakteriserades av katalas, röркоagulas och gramfärgning. *MecA*-medierad oxacillinresistens bedömdes genom diskdiffusionstest med användning av en 30 µg cefoxitindisk och cutoff-diameter på 21/22 mm.

Tre (3) av 78 MRSA-stammar rapporterade som MSRA-negativa/SA-positiva med Xpert MRSA/SA SSTI-testet. Ytterligare karakterisering tyder på att dessa stammar inte är resistent och rapporterades korrekt som MRSA-negativa; SA-positiva.

Två (2) av 43 SA-stammar rapporterade som MSRA-positiva/SA-positiva med Xpert MRSA/SA SSTI-testet. Ytterligare karakterisering tyder på att dessa stammar är resistent och rapporterades korrekt som MRSA-positiva/SA-positiva.

Alla de 12 kända USA300-isolaten rapporterades som förväntat korrekt som MRSA-positiva och SA-positiva.

23 Utvärdering av tom kassett-varianter

Tjugotvå (22) *Staphylococcus aureus*-isolat som identifierats som ”tom kassett-varianter” testades med användning av Xpert MRSA/SA SSTI-testet. Odlingar över natten justerades till 0,5 McFarland-enheter. Alla stammar testades från odlingar som späddes ytterligare 100 gånger (höga) och 100 000 gånger (låga).

Xpert MRSA/SA SSTI-testet identifierade korrekt alla 22 isolaten som MRSA-negativa och SA-positiva. Vid båda testade cellkoncentrationerna rapporterades endast, Ct-värden för *spa*- och *SCCmec*-mål. Inga *mecA* Ct-värden rapporterades.

24 Studie av överföringskontaminering

En studie genomfördes för att visa att fristående GeneXpert-kassetter för engångsbruk förhindrar överföringskontaminering vid körning av negativa prov efter körning av mycket högt positiva prov i samma GeneXpert-modul. Studien bestod av ett negativt prov som bearbetats i samma GeneXpert-modul omedelbart efter en körning med ett mycket högt MRSA-positivt prov (ungefär 10⁷ CFU/test). Detta upprepades 20 gånger mellan 2 GeneXpert-moduler i totalt 42 körningar. Det fanns inga tecken på överföringskontaminering. Alla de 21 positiva proven rapporterades korrekt som MRSA-positiva/SA-positiva. Alla 21 negativa prov rapporterades korrekt som MRSA-negativa/SA-negativa.

25 Reproducerbarhet

En panel med 10 prov med varierande koncentrationer av SA, MRSA och *Staphylococcus epidermidis* (negativ) testades i duplikat på 10 olika dagar vid tre olika platser (10 prov x 2 gånger/dag x 10 dagar x 3 platser). En lot Xpert MRSA/SA-kit användes vid var och en av de 3 testplatserna. Xpert MRSA/SA-tester genomfördes enligt Xpert MRSA/SA SSTI-testmetoden.

Tabell 11. Sammanfattning av resultat för reproducerbarhet

Prov-ID	Plats 1	Plats 2	Plats 3	Total överensstämmelse
Neg (MSSE)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA hög neg	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,7 % (58/60)
SA låg pos	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
MRSA1 hög neg	100 % (20/20)	90 % (18/20)	100 % (20/20)	96,6 % (58/60)
MRSA1 låg pos	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,6 % (58/60)
MRSA2 hög neg	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
MRSA2 låg pos	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,6 % (58/60)

Prov-ID	Plats 1	Plats 2	Plats 3	Total överensstämmelse
% total överensstämmelse per plats	100 % (140/140)	97,9 % (137/140)	95,7 % (134/140)	97,9 % (411/420)

Tabell 12. Sammanfattning av Ct-värderesultat per provnivå och probe

Nivå	Medelvärde	Std avv	%CV
SPC			
MRSA1 hög neg	34,52	0,82	2,36
MRSA2 hög neg	34,46	0,85	2,46
Neg (MSSE)	34,44	0,90	2,62
SA hög neg	34,38	0,92	2,66
spa			
Nivå	Medelvärde	Std avv	%CV
MRSA1 låg pos	32,96	0,8	2,44
MRSA2 låg pos	31,05	0,69	2,21
SA låg pos	33,91	0,8	2,35
mecA			
Nivå	Medelvärde	Std avv	%CV
MRSA1 låg pos	33,25	0,80	2,40
MRSA2 låg pos	31,50	0,68	2,16
SCCmec			
Nivå	Medelvärde	Std avv	%CV
MRSA1 låg pos	34,19	0,90	2,63
MRSA2 låg pos	33,13	0,68	2,05

En andra reproducerbarhetsstudie utfördes med en panel av 4 prov (SA: 10X LoD, MRSA1: 10X LoD, MRSA2: 10X LoD och negativ kontroll: *Staphylococcus epidermidis*). Panelerna testades i duplikat på 10 olika dagar vid var och en av tre platser (4 prov x 2 gånger/dag x 10 dagar x 3 platser). En lot Xpert MRSA/SA SSTI-test användes vid var och en av de 3 testplatserna. Xpert MRSA/SA SSTI-tester genomfördes enligt Xpert MRSA/SA SSTI-testmetoden. Korrekta resultat erhöles i 239 av 240 tester.

Tabell 13. Sammanfattning av resultat för reproducerbarhet

Prov-ID	Plats 1	Plats 2	Plats 3	Total överensstämmelse
Neg (MSSE)	100 (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA måttlig pos ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
MRSA1 måttlig pos ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
MRSA2 måttlig pos ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)

Prov-ID	Plats 1	Plats 2	Plats 3	Total överensstämmelse
% total överensstämmelse per plats	100 % (80/80)	100 % (80/80)	98,8 % (79/80)	99,6 % (239/240)

^a 10X LoD

Tabell 14. Sammanfattning av Ct-värderesultat per provnivå och probe

Nivå	Medelvärde	Std avv	%CV
SPC			
MRSA1 måttlig pos	35,72	1,87	5,24
MRSA2 måttlig pos	36,29	2,66	7,34
SA måttlig pos	34,55	1,19	3,44
NEG	34,45	1,06	3,09
spa			
Nivå	Medelvärde	Std avv	%CV
MRSA1 måttlig pos	29,52	1,30	4,40
MRSA2 måttlig pos	28,91	1,03	3,57
SA måttlig pos	30,59	0,91	2,99
mecA			
Nivå	Medelvärde	Std avv	%CV
MRSA1 måttlig pos	29,78	1,28	4,29
MRSA2 måttlig pos	29,32	1,24	4,22
SCCmec			
Nivå	Medelvärde	Std avv	%CV
MRSA1 måttlig pos	31,49	1,26	3,99
MRSA2 måttlig pos	31,05	1,12	3,59

26 Referenser

- 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.

8. 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.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (tidigare National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (se den senaste utgåvan).
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Kanegaye JT, Solimanzadeh 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.
14. Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. Sep;131:785-787.
15. 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.
16. 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.
17. 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 1907/2007).
18. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).

27 Platser för Cepheid-huvudkontor

Huvudkontor

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Europeiska huvudkontor

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

28 Teknisk assistans

Innan kontakt med Cepheid teknisk support, samla in följande information:

- Produktnamn
- Lotnummer
- Instrumentets serienummer
- Felmeddelanden (om några)
- Mjukvaruversion och, om tillämpligt, datorns service tag-nummer

USA




Telefon: + 1 888 838 3222
E-post: techsupport@cepheid.com















Frankrike

Telefon: + 33 563 825 319
E-post: support@cepheideurope.com

Kontaktinformation till alla kontor för Cepheid teknisk support finns tillgänglig på vår hemsida: www.cepheid.com/en/support/contact-us

29 Tabell med symboler

Symbol	Betydelse
	Katalognummer
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk produkt
	Får ej återanvändas

Symbol	Betydelse
	Satskod
	Se bruksanvisningen
	Försiktighet
	Tillverkare
	Tillverkningsland
	Innehåller tillräckligt för n test
	Kontroll
	Utgångsdatum
	CE-märkning – Europeisk överensstämmelse
	Temperaturbegränsning
	Varning
	Biologiska risker
	Auktoriserad representant i Schweiz
	Importör



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 Revisionshistorik

Avsnitt	Beskrivning av ändringen
Tabell med symboler	CH REP- och importörsymboler lades till samt definitioner i symboltabellen. CH REP och importörsymboler lades till med adress i Schweiz.
Revisionshistorik	Uppdaterade tabell om revisionshistorik.