

Xpert® Carba-R

REF **GXCARBARP-CE-10**

GXCARBARP-CE-120

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

Remel[™] is a trademark of Remel.

BBL[™] and Sensi-Disc[™] are trademarks of Becton Dickinson.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © Cepheid 2018-2023. All rights reserved.

Izjave o zaštitnim znakovima, patentima i autorskim pravima

Cepheid[®], logotip Cepheid, GeneXpert[®] i Xpert[®] zaštitni su znakovi društva Cepheid.

Remel[™] je zaštitni znak društva Remel.

BBL[™] i Sensi-Disc[™] zaštitni su znakovi društva Becton Dickinson.

Windows[®] je zaštitni znak društva Microsoft Corporation.

KUPNJOM OVOG PROIZVODA KUPCU SE DODJELJUJE NEPRENOSIVO PRAVO NA NJEGOVU UPOTREBU U SKLADU S OVOM UPUTOM ZA IZVOĐENJE TESTA. NIKAKVA SE DRUGA PRAVA NE DODJELJUJU IZRIČITO, IMPLICITNO ILI PREMA NAČELU ESTOPPEL. NADALJE, KUPNJOM OVOG PROIZVODA NE DODJELJUJU SE NIKAKVA PRAVA NA PREPRODAJU.

Autorsko pravo © Cepheid 2018-2023. Sva prava zadržana.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
SAD
Telefon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francuska
Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301

Xpert[®] Carba-R

Samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu

1 Vlasnički naziv

Xpert[®] Carba-R

2 Uobičajeni naziv

Test Xpert Carba-R

3 Namjena uređaja

Test Xpert Carba-R, koji se izvodi na sustavima instrumenata GeneXpert[®], kvalitativni je *in vitro* dijagnostički test namijenjen otkrivanju i diferencijaciji genskih sekvencija *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP} povezanih s neosjetljivošću na karbapenem. Test upotrebljava automatiziranu lančanu reakciju polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu.

Test Xpert Carba-R namijenjen je kao pomoć u kontroli infekcija otkrivanjem bakterija neosjetljivih na karbapenem koje koloniziraju bolesnike u bolničkom okružju. Negativan rezultat testa Xpert Carba-R ne isključuje prisutnost drugih mehanizama otpornosti.

Test Xpert Carba-R namijenjen je upotrebi za sljedeće vrste uzoraka:

Čiste kolonije

Test se provodi na čistim kolonijama bakterija *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* ili *Pseudomonas aeruginosa* neosjetljivih na karbapenem kada se uzgajaju na krvnom agaru ili MacConkeyjevom agaru. Za testiranje čistih kolonija test Xpert Carba-R treba upotrebljavati zajedno s drugim laboratorijskim testovima, uključujući testiranje fenotipske antimikrobne osjetljivosti.

Identifikacija metalo-beta-laktamaznog gena *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM} (tj. gena koji kodiraju metalo-beta-laktamaze IMP, NDM i VIM) može se upotrebljavati kao pomoć liječnicima u određivanju odgovarajućih terapijskih strategija za bolesnike s poznatim ili pretpostavljenim bakterijskim infekcijama koje nisu osjetljive na karbapenem.

Uzorci rektalnog i perirektalnog brisa

Test se provodi na uzorcima rektalnog ili perirektalnog brisa bolesnika koji su pod rizikom od kolonizacije crijeva bakterijama koje nisu osjetljive na karbapenem. Popratne kulture neophodne su za pronalazak organizama za epidemiološko tipiziranje, testiranje antimikrobne osjetljivost i za daljnju potvrđnu identifikaciju bakterija.

Kad se provodi na uzorcima rektalnog ili perirektalnog brisa, test Xpert Carba-R nije namijenjen za vođenje ili praćenje liječenja bakterijskih infekcija neosjetljivih na karbapenem ili za utvrđivanje infekcije bakterijama koje nisu osjetljive na karbapenem.

4 Sažetak i objašnjenje

Globalno širenje vrsta *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* koje proizvode karbapenemazu (tj. organizama neosjetljivih na karbapenem, CNSO), važan je problem koji se tiče medicine i javnog zdravlja.^{1,2} Te su bakterije često otporne na sve beta-laktamske agense, a često i na više drugih antimikrobnih agenasa, što ostavlja vrlo malo mogućnosti za liječenje.³ Praćenje širenja CNSO-a složeno je zbog raznolikosti enzima koji hidroliziraju karbapenem i koji su se pojavili te zbog sposobnosti gena da se šire među mnogobrojnim vrstama bakterija. Neki od gena koji su nositelji otpornosti, poput determinanti karbapenemaze *Klebsiella pneumoniae* (KPC), povezani su s uspješnim klonskim linijama bakterija (npr. *K. pneumoniae* ST258),⁴ koje imaju selektivnu prednost u bolničkom okružju s velikom učestalošću upotrebe antimikrobnih agenasa. Prilike za prijenos organizama često su brojne, a usto je prisutno i dodatno širenje gena koji su nositelji otpornosti putem prenosivih plazmida i integrona. Soj ST258 *K. pneumoniae* uzrokovao je više epidemija na globalnoj razini, naročito u Sjedinjenim Američkim Državama¹ i Izraelu.⁵ Isto tako, pojedinci koji su u mnogim slučajevima posjetili Indiju ili Pakistan donijeli su u Europu organizme koji sadrže genski kodiranu New Delhi metalo-beta-laktamazu (NDM).⁶ Već nekoliko godina u Europi zabrinutost izaziva i treći mehanizam karbapenemske otpornosti, Verona-integronom kodirana metalo-beta-laktamaza (VIM). U Japanu i drugim azijskim zemljama već su godinama poznate i druge metalo-beta-laktamaze, poput onih iz razreda imipenemaza (IMP), te se sada šire na globalnoj razini.³ Pored toga, Europom se sada brzo širi i OXA-48, oksacilinaza razreda D, koja često posreduje nisku razinu karbapenemske otpornosti.^{7,8}

Trenutačna standardna metoda prepoznavanja bolesnika s kolonijama organizama neosjetljivih na karbapenem uzimanje je kultura putem uzoraka rektalnog ili perirektalnog brisa na gram-negativnim selektivnim podlogama agara, kao što je MacConkeyjev agar, te zatim testiranjem antimikrobne osjetljivosti kolonija koje fermentiraju laktozu ili upotrebom medija agara za selektivno probranje.⁹ Potonje je teško i za konačni rezultat može biti potrebno i nekoliko dana, dok prvi pristup znatno varira u smislu osjetljivosti i specifičnosti, ovisno o selektivnom mediju koji se upotrebljava.

Brza i precizna metoda za utvrđivanja nalazi li se u uzorcima rektalnog ili perirektalnog brisa ili bakterijskom izolatu koji nije osjetljiv na karbapenem jedna od ovih pet uobičajenih klasa gena s otpornosti na karbapenem predstavljala bi značajnu pomoć u programima kontrole infekcije, posebno tijekom epidemija, jer ima potencijal za sljedeće: 1) identificiranje specifičnog gena otpornosti prisutnog u organizmu i 2) razlikovanje onih organizama s najčešćim prijenosnim genima otpornosti na karbapenem koji enkodiraju enzime karbapenemaze iz organizama koji su rezistentni zbog drugih beta-laktamaza i/ili promjena u staničnoj stijenci organizma za koje ne mora nužno značiti da se za bolesnika moraju provesti mjere opreza s obzirom na kontakt s drugima.

Terapijski izazovi povezani s bakterijom *Enterobacteriaceae* otpornom na karbapenem povećali su svijest o potrebi brzog otkrivanja i provedbe učinkovitih mjera za sprečavanje širenja i prijenosa. Antimikrobni agensi, kao što su nove kombinacije beta-laktamskih inhibitora / inhibitora beta-laktamaze, različito djeluju protiv bakterija koje proizvode različite vrste beta-laktamaza. Rezultati testa Xpert Carba-R koji pokazuju prisutnost metalo-beta-laktamaznog gena *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} i *bla*_{NDM} iz čistih kolonija zahvaćenih organizama mogu biti korisni u određivanju terapijske strategije koja uključuje kombinacije beta-laktamskih inhibitora / inhibitora beta-laktamaze.^{10,11,12,13,14}

5 Načelo postupka

Sustavi instrumenta GeneXpert automatiziraju i integriraju pripremu uzoraka, ekstrakciju i amplifikaciju nukleinskih kiselina i otkrivanje ciljne sekvence u jednostavnim ili složenim uzorcima s pomoću testa lančane reakcije polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu. Sustavi se sastoje od instrumenta, osobnog računala i unaprijed instaliranih softvera za izvođenje testova i pregled rezultata. Za sustav je potrebna upotreba jednokratnih uložaka u kojima se nalaze reagensi za PCR i u kojima se odvija postupak PCR-a. Budući da su ulošci autonomni, mogućnost križne kontaminacije među uzorcima svedena je na minimum. Potpuni opis sustava potražite u *Korisničkom priručniku za GeneXpert Dx* ili *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Infinity*.

Test Xpert Carba-R uključuje reagens za otkrivanje genskih sekvenci *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP}, kao i kontrolu obrade uzoraka (Sample Processing Control – SPC) za kontroliranje adekvatne obrade ciljanih bakterija i indiciranje prisutnosti inhibitora u reakciji PCR. SPC osigurava i da uvjeti reakcije PCR (temperatura i vrijeme) budu prikladni za reakciju amplifikacije te da reagensi za PCR budu funkcionalni. Dodatna unutarnja kontrola, tj. kontrola za provjeru sonde (Probe Check Control, PCC) provjerava rehidraciju reagensa, napunjenost epruvete za PCR u ulošku, cjelovitost sonde i stabilnost boje.

Početnice i sonde u testu Xpert Carba-R otkrivaju zakonom zaštićene sekvence za genske sekvence *bla*_{KPC} (KPC), *bla*_{NDM} (NDM), *bla*_{VIM} (VIM), *bla*_{OXA-48} (OXA-48) i *bla*_{IMP} (IMP), povezane s neosjetljivošću na karbapenem kod gram-negativnih bakterija.

6 Reagensi i instrumenti

6.1 Isporučeni materijali



Komplet testa Xpert Carba-R (GXCARBARP-CE-10) sadrži dovoljno reagenasa za obradu 10 uzoraka, a komplet testa Xpert Carba-R (GXCARBARP-CE-120) sadrži dovoljno reagenasa za obradu 120 uzoraka. Kompleti sadrže sljedeće:

Uloške testa Xpert Carba-R s integriranim reakcijskim epruvetama	10	120
• Kuglica 1, kuglica 2 i kuglica 3 (osušene zamrzavanjem)	1 od svake po ulošku	1 od svake po ulošku
• Reagens 1	3 ml po ulošku	3 ml po ulošku
• Reagens 2 (gvanidin-klorid)	2,5 ml po ulošku	2,5 ml po ulošku
Bočice s reagensom za uzorak za test Xpert Carba-R	10	120
• Reagens za uzorak	5,0 ml po bočici	5,0 ml po bočici
Jednokratne prijenosne pipete (1,7 ml)	10	120
CD	1	1
• Datoteke definicije testa (ADF)		
• Upute za unos ADF-a u softver		
• Upute za upotrebu (uputa za izvođenje testa)		

Napomena

Sigurnosno-tehnički listovi (SDS) dostupni su na stranici www.cepheid.com ili www.cepheidinternational.com pod karticom **PODRŠKA (SUPPORT)**.

Napomena

Goveđi serumski albumin (BSA) u kuglicama koje su dijelom ovog proizvoda proizveden je isključivo od goveđe plazme koja potječe iz Sjedinjenih Američkih Država. Životinje nisu hranjene proteinima porijeklom od preživača ni drugim životinjskim proteinima; životinje su podvrgnute testiranju prije i nakon smrti. Tijekom obrade nije bilo miješanja materijala s drugim životinjskim materijalima.

6.2 Skladištenje i rukovanje

- Uloške testa Xpert Carba-R čuvajte na temperaturi od 2 °C do 28 °C.



- Ne otvarajte poklopac uložka dok niste spremni provesti testiranje.
- Nemojte upotrebljavati reagens ili uloške kojima je istekao rok trajanja.
- Reagens za uzorak proziran je i bezbojna tekućina. Ne upotrebljavajte reagens za uzorak ako je postao mutan ili ako je promijenio boju.
- Uložak upotrijebite najviše 30 minuta nakon otvaranja poklopca.
- Nemojte upotrebljavati uložak na kojemu je došlo do curenja.

6.3 Potrebni materijali koji nisu isporučeni


- Instrument GeneXpert Dx ili sustavi GeneXpert Infinity (kataloški broj ovisi o konfiguraciji): Instrument GeneXpert, računalo, čitač crtičnih kodova, korisnički priručnik.
 - Za sustav GeneXpert Dx: Verzija softvera GeneXpert Dx 4.3 ili novija
- Uređaj za prikupljanje uzoraka: kataloški broj društva Cepheid 900-0370
- Krvni agar (npr. krvni agar Remel™: kataloški broj R01200 ili ekvivalent)
- MacConkeyjev agar (npr. MacConkeyjev agar Remel™: kataloški broj R01550 ili ekvivalent)
- Diskovi meropenema od 10 µg (npr. diskovi za testiranje antimikrobne osjetljivosti BD BBL™ Sensi-Disc™, meropenem, kataloški broj 231704 ili ekvivalent)
- Sterilne hvataljke
- Jednokratne sterilne omče za inokulaciju od 10 µl (npr. Copan: kataloški broj COPS-10 ili Hardy Diagnostics: kataloški broj L2002A ili ekvivalent)
- Vrtložna miješalica
- Pisač: Ako je potreban pisač, obratite se tehničkoj podršci društva Cepheid da biste dogovorili kupnju preporučenog pisača.

7 Upozorenja i mjere opreza

- Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.
- Samo za uporabu na recept.
- Sa svim biološkim uzorcima, uključujući iskorištene uloške, postupajte kao da mogu prenijeti uzročnike zaraznih bolesti. Budući da često nije moguće znati koji bi biološki uzorci mogli biti zarazni, sa svim biološkim uzorcima treba postupati primjenjujući standardne mjere opreza. Smjernice za rukovanje uzorcima možete dobiti od Centara za kontrolu i prevenciju bolesti u SAD-u^{15, 16} i Instituta za kliničke i laboratorijske standarde.¹⁷
- Slijedite sigurnosne postupke svoje ustanove za rad s kemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima / podlogama agara s čistim kolonijama.
- Za biološke uzorke, prijenosni pribor i iskorištene uloške smatra se da mogu prenijeti uzročnike zaraznih bolesti te su potrebne standardne mjere opreza. Za pravilno odlaganje iskorištenih uložaka i neiskorištenih reagensa slijedite postupke za upravljanje otpadom svoje ustanove. Ti materijali mogu pokazivati značajke opasnog kemijskog otpada, za što su potrebni posebni nacionalni ili regionalni postupci za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne pružaju jasne upute o pravilnom odlaganju, biološki uzorci i iskorišteni ulošci trebaju se odložiti prema smjernicama za rukovanje i odlaganje medicinskog otpada SZO-a [Svjetske zdravstvene organizacije].
- Dobra laboratorijska praksa, uključujući promjenu rukavica između rukovanja uzorcima, preporučuje se kako bi se izbjegla kontaminacija uzoraka ili reagensa.
- Nemojte zamjenjivati reagens za uzorak testa Xpert Carba-R drugim reagensima.

- Nemojte otvarati poklopac uložka za test Xpert Carba-R dok niste spremni dodati uzorak.
- Nemojte upotrebljavati uložak koji vam je ispao nakon što ste ga izvadili iz pakiranja.
- Uložak nemojte tresti. Ako protresete uložak nakon otvaranja poklopca uložka ili vam ispadne, možete dobiti nevažeće rezultate.
- Nemojte stavljajte ID naljepnicu uzorka na poklopac uložka ili na naljepnicu s crtičnim kodom.
- ② • Svaki jednokratni uložak testa Xpert Carba-R upotrebljava se za obradu jednog testa. Nemojte ponovno upotrebljavati iskorištene uloške.
- Nemojte upotrebljavati uložak s oštećenom reakcijskom epruvetom.
- Nosite čiste laboratorijske kute i rukavice. Između obrade svakog uzorka promijenite rukavice.
- U slučaju kontaminacije radnog prostora ili opreme s uzorcima ili kontrolama, temeljito očistite onečišćeno područje otopinom kućnog izbjeljivača s klorom u omjeru 1:10, a zatim ponovno očistite radni prostor 70 %-tnim etanolom. Prije nastavka brišite površine dok se potpuno ne osuše.

8 Kemijske opasnosti^{18, 19}

- Piktogrami opasnosti prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija (GHS) UN-a: 
- Oznaka opasnosti: UPOZORENJE
- **Oznake obavijesti prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija (GHS) UN-a**
 - **Sprečavanje**
 - Nakon uporabe temeljito oprati.
 - Nosite zaštitne rukavice / zaštitnu odjeću / zaštitu za oči / zaštitu za lice.
 - **Postupanje**
 - U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM: oprati velikom količinom sapuna i vode.
 - Specifično liječenje potražite u dodatnim informacijama o prvoj pomoći.
 - Skinuti zagađenu odjeću i oprati prije ponovne uporabe.
 - U slučaju nadražaja kože: zatražiti savjet/pomoć liječnika.
 - U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje.
 - Ako nadražaj oka ne prestaje: zatražiti savjet/pomoć liječnika.
 - Ako se ne osjećate dobro, nazovite CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili doktora/liječnika.

9 Priprema i čuvanje uzoraka

Uzorci rektalnog ili perirektalnog brisa:

Brisove koje trebate upotrebljavati potražite u odjeljku 6.3, Potrebni materijali koji nisu isporučeni.

- Prikupljanje uparenog rektalnog brisa: pažljivo umetnite oba vrha brisa oko 1 cm iza analnog sfinktera i polako rotirajte. Brisove koje trebate upotrebljavati potražite u odjeljku „Potrebni materijali koji nisu isporučeni”, a primjere prihvatljivih i neprihvatljivih brisova za uporabu s testom Xpert Carba-R potražite na slici 1 i slici 2.
- Prikupljanje uparenog perirektalnog brisa: pažljivo umetnite oba vrha brisa ne više od 1 cm u analni otvor prije analnog sfinktera i polako rotirajte.
- Brisovi u prijenosnoj epruveti mogu se čuvati na temperaturi od 15 °C do 28 °C do pet dana.
- Na slici 1 u nastavku navode se primjeri prihvatljivih uzoraka brisova za upotrebu s testom Xpert Carba-R, a na slici 2 navode se primjeri jako zaprljanih uzoraka brisova koji se ne bi trebali upotrebljavati s testom Xpert Carba-R.





Slika 1. Primjeri prihvatljivih uzoraka brisova za testiranje testom Xpert Carba-R



Slika 2. Primjeri neprihvatljivih uzoraka brisova za testiranje testom Xpert Carba-R

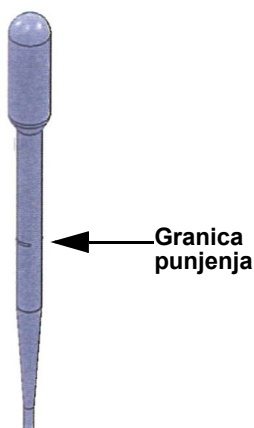
Bakterijski izolati:

1. Organizme treba identificirati i treba utvrditi status neosjetljivosti na karbapenem u skladu s aktualnim uputama za lijek koje je odobrila američka Agencija za hranu i lijekove (FDA) i najnovijom verzijom smjernica CLSI M10020 prije testiranja na testu Xpert Carba-R.
2. Inokulirajte organizam na krvnu ili MacConkeyjevu podlogu agara, razvucite u pruge za izolaciju i stavite disk meropenema od 10 µg diska u prvi kvadrant pruge kako biste osigurali da izolot zadrži svoju neosjetljivost na karbapenem.
3. Inkubirajte podlogu na 35 °C između 18 i 24 sata u okolnom zraku.
4. Upotrijebite metodu izravne suspenzije kolonije dodiranjem izoliranih kolonija brisom ili omčom kako biste pripremili suspenziju od 0,5 McFarlanda bakterijskog izolata od kako je navedeno u odobrenom standardu CLSI M07.²¹ Koraci su također opisani u nastavku.
 - A. Napravite suspenziju izoliranih kolonija odabranih na podlozi agara (npr. neselektivni medij kao što je krvni agar koji je inkubiran između 18 i 24 sata) izravno u bujonu ili slanoj otopini.
 - B. Podesite suspenziju da se postigne zamućenost jednaka standardu od 0,5 McFarlanda. To rezultira suspenzijom koja sadrži otprilike 1 do 2×10^8 CFU/ml za ATCC *E. coli* (zbirka naziva American Type Culture Collection) 25922.
 - C. Da biste usporedili epruvetu za inokulaciju i standard od 0,5 McFarlanda s karticom s bijelom pozadinom i kontrastnim crnim crtama upotrijebite fotometrijski uređaj ili, ako to izvodite vizualno, upotrijebite odgovarajuće svjetlo.

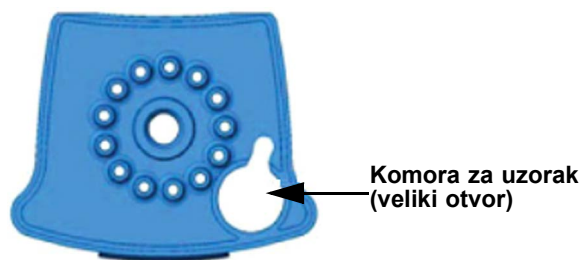
10 Postupak

10.1 Priprema uložka

Važno	Stavite uložak u instrument GeneXpert u roku od 30 minuta od dodavanja uzorka u uložak.
	<ol style="list-style-type: none"> Izvadite uložak testa Xpert Carba-R, bočicu s reagensom za uzorak i prijenosnu pipetu iz kompleta. Otvorite bočicu reagensa za uzorak. Da biste dodali uzorak u uložak: <ul style="list-style-type: none"> Za uzorke rektalnog ili perirektalnog brisa da biste dodali uzorak brisa u uložak: <ul style="list-style-type: none"> Iz uparenih brisova stavite jedan bris u bočicu s reagensom za uzorak. Zamijenite neiskorišteni bris u prijenosnoj epruveti i spremite.
Napomena	Uvjete skladištenja uzorka rektalnog ili perirektalnog brisa potražite u odjeljku 9. Preostali drugi bris može se upotrijebiti za ponovljeno testiranje.
Napomena	Pogledajte odjeljku 14, Postupak ponovnog testiranja da biste ponovili test za uzorke rektalnog ili perirektalnog brisa. <ul style="list-style-type: none"> Držite bris za štapić blizu ruba bočice, podignite bris nekoliko milimetara od dna bočice i savijte štapić preko ruba bočice kako bi se slomio na označenom mjestu, tako da bris ostane dovoljno kratak da stane u bočicu, ali i da se omogući čvrsto zatvaranje poklopca. Za bakterijske izolate da biste dodali suspenziju izolata od 0,5 McFarlanda u uložak: <ul style="list-style-type: none"> Promiješajte suspenziju od 0,5 McFarlanda u vrtložnoj miješalici. S pomoću omče od 10 µl prenesite 10 µl suspenzije od 0,5 McFarlanda u bočicu reagensa za uzorak od 5 ml. Zavrtite omču najmanje tri puta u uzorku za reagens. Nakon početnog testiranja ostatak uzorka u bočici s reagensom za uzorak može se zadržati na od 2 °C do 28 °C do pet dana ako je potrebno ponovno testiranje.
Napomena	Upute o tome kako ponoviti testiranje za uzorke bakterijskih izolata potražite u odjeljku 14, Postupak ponovnog testiranja.
Napomena	Provjerite je li omča od 10 µl napunjena uzorkom, a suspenzija uzorka u omči ne puca pri prijenosu suspenzije od 0,5 McFarlanda u uzorak za reagens.
	<ol style="list-style-type: none"> Čvrsto zatvorite bočicu s reagensom za uzorak i promiješajte u vrtložnoj miješalici 10 sekundi pri velikoj brzini. Otvorite poklopac uložka. Otvorite poklopac reagensa za uzorak. S pomoću priložene prijenosne pipete aspirirajte pripremljeni uzorak (reagens za uzorak koji sadrži uzorak iz 2. koraka) do oznake na pipeti (što je približno 1,7 ml; pogledajte sliku 3), a zatim prenesite materijal u veliki otvor komore za uzorak (pogledajte sliku 4) uložka testa Xpert Carba-R. Zatvorite poklopac uložka i stavite uložak u instrument GeneXpert u roku od 30 minuta od dodavanja uzorka u uložak.



Slika 3. Prijenosna pipeta za prebacivanje uzorka u uložak



Slika 4. Uložak testa Xpert Carba-R (odozgo)

10.2 Pokretanje testa

Važno Prije pokretanja testa uvezite datoteku definicije testa Xpert Carba-R u softver. U ovom su odjeljku navedeni osnovni koraci za provođenje testa. Detaljne upute potražite u *Korisničkom priručniku za GeneXpert Dx* ili *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Infinity*.

Napomena

Koraci koje ćete slijediti mogu se razlikovati ako je administrator sustava promijenio zadani radni postupak sustava. U nastavku je opisan zadani tijek rada.

1. Uključite sustav instrumenta GeneXpert:
 - Ako upotrebljavate instrument GeneXpert Dx, najprije uključite instrument, a zatim uključite računalo. Softver GeneXpert pokrenut će se automatski ili će biti potrebno dvaput kliknuti ikonu prečaca za softver GeneXpert Dx na radnoj površini sustava Windows®.
 - ili
 - Ako upotrebljavate instrument GeneXpert Infinity, uključite ga. Softver Xpertise pokrenut će se automatski ili će biti potrebno dvaput kliknuti ikonu prečaca za softver Xpertise na radnoj površini sustava Windows.
2. Prijavite se u softver sustava instrumenta GeneXpert svojim korisničkim imenom i lozinkom.
3. U prozoru sustava GeneXpert kliknite **Izradi test (Create Test)** (GeneXpert Dx) ili kliknite **Nalozi (Orders) i Izdaj nalog za test (Order Test)** (Infinity).
4. Očitajte ID bolesnika (Patient ID) (neobavezno). Ako upisujete ID bolesnika (Patient ID), pripazite da ga točno upišete. ID bolesnika (Patient ID) povezan je s rezultatom testa i vidi se u prozoru View Results (Prikaz rezultata).
5. Očitajte ili upišite ID uzorka (Sample ID). Ako upisujete ID uzorka (Sample ID), pripazite da ga točno upišete. ID uzorka (Sample ID) povezan je s rezultatom testa i vidi se u prozoru Prikaz rezultata (View Results).
6. Očitajte crtični kod na ulošku testa Xpert Carba-R. S pomoću informacija na crtičnom kodu, softver automatski ispunjava okvire za sljedeća polja: Odaberi test (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), Serijski broj uloška (Cartridge SN) i Datum isteka (Expiration Date).

Napomena

Ako se crtični kod na ulošku Xpert Carba-R ne da očitati, pripremite novi test tako što ćete slijediti postupak ponovnog testiranja opisan u odjeljku 14.

7. Kliknite **Pokreni test (Start Test)** (GeneXpert Dx) ili **Pošalji (Submit)** (Infinity). Unesite svoju lozinku ako je potrebno.
8. Za sustav GeneXpert Infinity stavite uložak na pokretnu traku. Uložak će se automatski napuniti, test će se pokrenuti, a iskorišteni uložak premjestiti u spremnik za otpad.
- ili
- Za instrument GeneXpert Dx:
 - A. Otvorite vrata modula instrumenta s treperećim zelenim svjetlom i postavite uložak.
 - B. Zatvorite vrata. Test se pokreće, a zeleno svjetlo prestaje treperiti. Kada test završi, svjetlo se isključuje.
 - C. Prije nego što otvorite vrata modula, pričekajte da sustav otključa vrata. Zatim izvadite uložak.
 - D. Odložite iskorištene uloške u odgovarajuće spremnike za otpad od uzoraka u skladu sa standardnim praksama vaše ustanove.

10.3 Prikaz i ispis rezultata

U ovom su odjeljku navedeni osnovni koraci za prikazivanje i ispis rezultata. Detaljnije upute o prikazu i ispisu rezultata potražite u *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Dx* ili *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Infinity*.

1. Za prikaz rezultata kliknite ikonu **Prikaz rezultata (View Results)**.
2. Nakon završetka testa kliknite gumb Izvješće (Report) u prozoru Prikaz rezultata (View Results) za prikaz i/ili izradu PDF datoteke s izvješćem.

11 Kontrola kvalitete

CONTROL Ugrađena kontrola kvalitete

Svaki test uključuje kontrolu obrade uzoraka (SPC) i kontrolu za provjeru sonde (PCC).

- **Kontrola obrade uzoraka (SPC)** – osigurava ispravnu obradu uzorka. SPC sadrži spore *Bacillus globigii* u obliku suhe kuglice sadržane u svakom ulošku radi provjere prikladnosti obrade uzorka. SPC-om se provjerava je li došlo do lize bakterija u slučaju prisutnosti tih organizama te se provjerava i prikladnost obrade uzorka. Uz to, ovom se kontrolom otkriva inhibicija PCR testa u stvarnom vremenu povezana s uzorkom, osigurava se i da uvjeti reakcije PCR (temperatura i vrijeme) budu prikladni za reakciju amplifikacije te da reagensi za PCR budu funkcionalni.

SPC bi trebala biti pozitivna u negativnom uzorku, a negativna ili pozitivna u pozitivnom uzorku. SPC zadovoljava ako ispunjava potvrđene kriterije za prihvatanje.

- **Kontrola za provjeru sonde (PCC)** – prije početka reakcije PCR-a, sustav GeneXpert mjeri fluorescentni signal iz sonde, u cilju praćenja rehidracije kuglica, punjenja reakcijske epruvete, cjelovitosti sonde i stabilnosti boje. Provjera sonde zadovoljava ako ispunjava dodijeljene kriterije za prihvatanje.

Vanjske kontrole

U skladu s propisima lokalnih, državnih ili saveznih organizacija za akreditaciju (ovisno o situaciji), mogu se provesti i vanjske kontrole.

12 Tumačenje rezultata

Sustav GeneXpert tumači rezultate na temelju izmjerenih fluorescentnih signala i ugrađenih algoritama za izračun te se ti rezultati prikazuju u prozoru Prikaz rezultata (View Results). Snimke zaslona i tumačenja za sve moguće kombinacije rezultata s pet ciljanih analita u testu Xpert Carba-R neće biti prikazani. Međutim, sljedeći primjeri ukazuju na to kakvu je vrstu rezultata moguće očekivati.

Napomena

Tablica i brojke u nastavku samo su reprezentativni primjeri vrsta rezultata koje se mogu očekivati u testu Xpert Carba-R. Nisu prikazane sve moguće kombinacije rezultata za pet ciljanih analita.

Tablica 1. Reprezentativni rezultati testa Xpert Carba-R i njihovo tumačenje

Rezultat	Tumačenje
IMP DETEKTIRAN; VIM NIJE DETEKTIRAN; NDM NIJE DETEKTIRAN; KPC NIJE DETEKTIRAN; OXA48 NIJE DETEKTIRAN (IMP DETECTED; VIM NOT DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED) Pogledajte sliku 5.	Detektirana ciljane sekvence DNK IMP; ciljane sekvence DNK VIM, NDM, KPC i OXA-48 nisu detektirane. <ul style="list-style-type: none"> • PCR amplifikacija ciljane sekvence DNK IMP daje vrijednost Ct unutar važećeg raspona te krajnju vrijednost fluorescencije iznad praga; ciljane sekvence DNK VIM, NDM, KPC i OXA-48 nisu prisutne ili su prisutne u količinama koje test ne detektira. • SPC: nije primjenjivo. SPC se zanemaruje jer ciljane sekvence DNK-a IMP može biti konkurentna toj kontroli. • PCC: ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. • Terapeutske strategije koje uključuju antimikrobne agense, kao što su kombinacije beta-laktamskih inhibitora / inhibitora beta-laktamaze s ograničenom ili nikakvom aktivnošću protiv bakterija koje proizvode metalo-beta-laktamaze, treba primjenjivati s oprezom. Rezultati testa Xpert Carba-R koji pokazuju prisutnost metalo-beta-laktamaznog gena <i>bla_{IMP}</i>, <i>bla_{VIM}</i> i <i>bla_{NDM}</i> iz čistih kolonija zahvaćenih organizama mogu biti korisni u određivanju terapijske strategije u bolesnika s poznatim ili pretpostavljenim bakterijskim infekcijama koje nisu osjetljive na karbapenem.

Tablica 1. Reprezentativni rezultati testa Xpert Carba-R i njihovo tumačenje (nastavak)

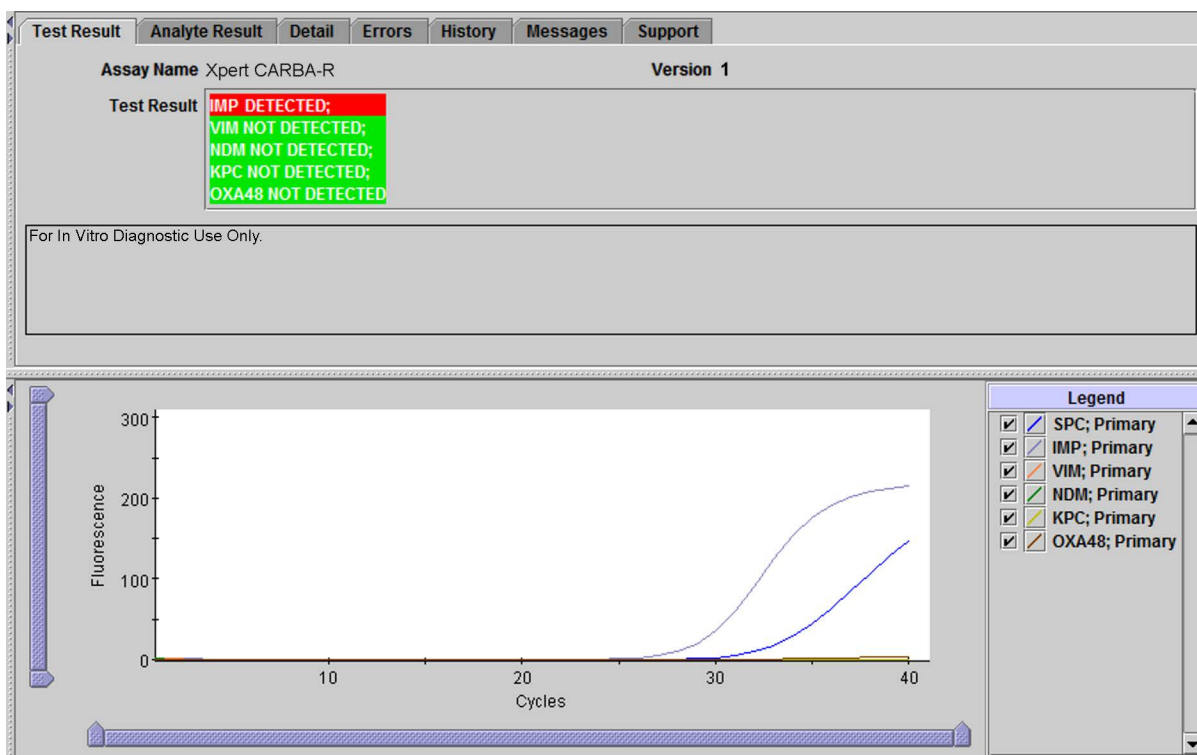
Rezultat	Tumačenje
IMP NIJE DETEKTIRAN; VIM NIJE DETEKTIRAN; NDM NIJE DETEKTIRAN; KPC NIJE DETEKTIRAN; OXA48 NIJE DETEKTIRAN (IMP NOT DETECTED; VIM DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED) Pogledajte sliku 6.	Detektirana ciljane sekvenca DNK VIM; ciljane sekvence DNK IMP, NDM, KPC i OXA-48 nisu detektirane. <ul style="list-style-type: none"> • PCR amplifikacija ciljane sekvence DNK VIM daje vrijednost Ct unutar važećeg raspona te krajnju vrijednost fluorescencije iznad praga; ciljane sekvence DNK IMP, NDM, KPC i OXA-48 nisu prisutne ili su prisutne u količinama koje test ne detektira. • SPC: nije primjenjivo. SPC se zanemaruje jer ciljane amplifikacije DNK-a VIM može biti konkurentna toj kontroli. • PCC: ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. • Terapeutske strategije koje uključuju antimikrobne agense, kao što su kombinacije beta-laktamskih inhibitora / inhibitora beta-laktamaze s ograničenom ili nikakvom aktivnošću protiv bakterija koje proizvode metalo-beta-laktamaze, treba primjenjivati s oprezom. Rezultati testa Xpert Carba-R koji pokazuju prisutnost metalo-beta-laktamaznog gena <i>bla_{IMP}</i>, <i>bla_{VIM}</i> i <i>bla_{NDM}</i> iz čistih kolonija zahvaćenih organizama mogu biti korisni u određivanju terapijske strategije u bolesnika s poznatim ili pretpostavljenim bakterijskim infekcijama koje nisu osjetljive na karbapenem.
IMP NIJE DETEKTIRAN; VIM DETEKTIRAN; NDM DETEKTIRAN; KPC NIJE DETEKTIRAN; OXA48 NIJE DETEKTIRAN (IMP NOT DETECTED; VIM DETECTED; NDM DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED) Pogledajte sliku 7.	Detektirane ciljane sekvence DNK VIM i NDM; ciljane sekvence DNK, IMP, KPC i OXA-48 nisu detektirane. <ul style="list-style-type: none"> • PCR amplifikacija ciljanih DNK-a VIM i NDM daje vrijednosti Ct unutar važećih raspona te krajnje vrijednosti fluorescencije iznad praga; ciljane sekvence DNK IMP, KPC i OXA-48 nisu prisutne ili su prisutne u količinama koje test ne detektira. • SPC: nije primjenjivo. SPC se zanemaruje jer ciljane amplifikacije DNK-a VIM i NDM mogu biti konkurentne toj kontroli. • PCC: ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. • Terapeutske strategije koje uključuju antimikrobne agense, kao što su kombinacije beta-laktamskih inhibitora / inhibitora beta-laktamaze s ograničenom ili nikakvom aktivnošću protiv bakterija koje proizvode metalo-beta-laktamaze, treba primjenjivati s oprezom. Rezultati testa Xpert Carba-R koji pokazuju prisutnost metalo-beta-laktamaznog gena <i>bla_{IMP}</i>, <i>bla_{VIM}</i> i <i>bla_{NDM}</i> iz čistih kolonija zahvaćenih organizama mogu biti korisni u određivanju terapijske strategije u bolesnika s poznatim ili pretpostavljenim bakterijskim infekcijama koje nisu osjetljive na karbapenem.
IMP DETEKTIRAN; VIM NIJE DETEKTIRAN; NDM DETEKTIRAN; KPC NIJE DETEKTIRAN; OXA48 NIJE DETEKTIRAN (IMP DETECTED; VIM NOT DETECTED; NDM DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED) Pogledajte sliku 8.	Detektirane ciljane sekvence DNK IMP i NDM; ciljane sekvence DNK, VIM, KPC i OXA-48 nisu detektirane. <ul style="list-style-type: none"> • PCR amplifikacija ciljanih DNK-a IMP i NDM daje vrijednosti Ct unutar važećih raspona te krajnje vrijednosti fluorescencije iznad praga; ciljane sekvence DNK VIM, KPC i OXA-48 nisu prisutne ili su prisutne u količinama koje test ne detektira. • SPC: nije primjenjivo. SPC se zanemaruje jer ciljane amplifikacije DNK-a IMP i NDM mogu biti konkurentne toj kontroli. • PCC: ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. • Terapeutske strategije koje uključuju antimikrobne agense, kao što su kombinacije beta-laktamskih inhibitora / inhibitora beta-laktamaze s ograničenom ili nikakvom aktivnošću protiv bakterija koje proizvode metalo-beta-laktamaze, treba primjenjivati s oprezom. Rezultati testa Xpert Carba-R koji pokazuju prisutnost metalo-beta-laktamaznog gena <i>bla_{IMP}</i>, <i>bla_{VIM}</i> i <i>bla_{NDM}</i> iz čistih kolonija zahvaćenih organizama mogu biti korisni u određivanju terapijske strategije u bolesnika s poznatim ili pretpostavljenim bakterijskim infekcijama koje nisu osjetljive na karbapenem.

Tablica 1. Reprezentativni rezultati testa Xpert Carba-R i njihovo tumačenje (nastavak)

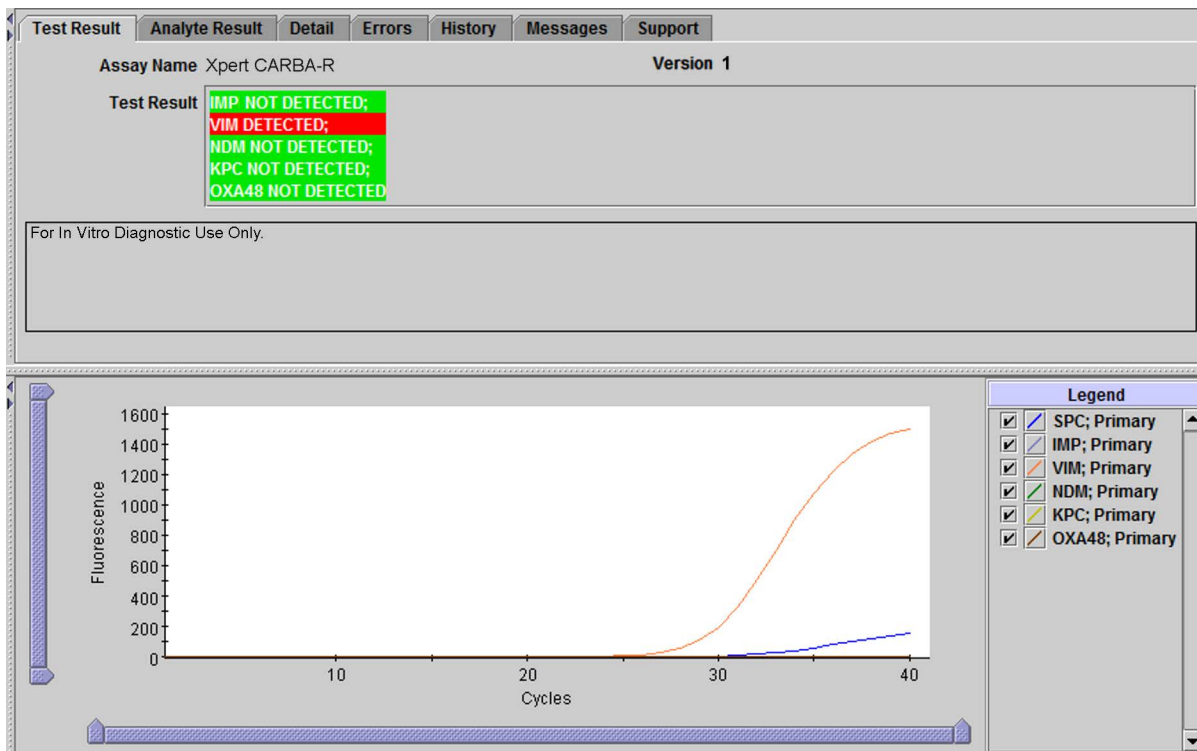
Rezultat	Tumačenje
IMP DETEKTIRAN; VIM DETEKTIRAN; NDM NIJE DETEKTIRAN; KPC NIJE DETEKTIRAN; OXA48 DETEKTIRAN (IMP DETECTED; VIM DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 DETECTED) Pogledajte sliku 9.	<p>Detektirane ciljane sekvence DNK IMP, VIM i OXA-48; ciljane sekvence DNK NDM i KPC nisu detektirane.</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCR amplifikacija ciljanih DNK-a IMP, VIM i OXA-48 daje vrijednosti Ct unutar važećih raspona te krajnje vrijednosti fluorescencije iznad praga; ciljane sekvence DNK KPC i NDM nisu prisutne ili su prisutne u količinama koje test ne detektira. • SPC: nije primjenjivo. SPC se zanemaruje jer ciljane amplifikacije DNK-a IMP, VIM i OXA-48 mogu biti konkurentne toj kontroli. • PCC: ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. • Terapeutske strategije koje uključuju antimikrobne agense, kao što su kombinacije beta-laktamskih inhibitora / inhibitora beta-laktamaze s ograničenom ili nikakvom aktivnošću protiv bakterija koje proizvode metalo-beta-laktamaze, treba primjenjivati s oprezom. Rezultati testa Xpert Carba-R koji pokazuju prisutnost metalo-beta-laktamaznog gena <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} i <i>bla</i>_{NDM} iz čistih kolonija zahvaćenih organizama mogu biti korisni u određivanju terapijske strategije u bolesnika s poznatim ili pretpostavljenim bakterijskim infekcijama koje nisu osjetljive na karbapenem.
IMP DETEKTIRAN; VIM DETEKTIRAN; NDM DETEKTIRAN; KPC NIJE DETEKTIRAN; OXA48 DETEKTIRAN (IMP DETECTED; VIM DETECTED; NDM DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 DETECTED) Pogledajte sliku 10.	<p>Detektirane ciljane sekvence DNK IMP, VIM, NDM i OXA-48; ciljana sekvenca DNK KPC nije detektirana.</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCR amplifikacija ciljanih DNK-a, IMP, VIM, NDM i OXA-48 daje vrijednosti Ct unutar važećih raspona te krajnje vrijednosti fluorescencije iznad praga; ciljana sekvenca DNK KPC nije prisutna ili je prisutna u količinama koje test ne detektira. • SPC: nije primjenjivo. SPC se zanemaruje jer ciljane amplifikacije DNK-a IMP, VIM, NDM i OXA-48 mogu biti konkurentne toj kontroli. • PCC: ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. • Terapeutske strategije koje uključuju antimikrobne agense, kao što su kombinacije beta-laktamskih inhibitora / inhibitora beta-laktamaze s ograničenom ili nikakvom aktivnošću protiv bakterija koje proizvode metalo-beta-laktamaze, treba primjenjivati s oprezom. Rezultati testa Xpert Carba-R koji pokazuju prisutnost metalo-beta-laktamaznog gena <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} i <i>bla</i>_{NDM} iz čistih kolonija zahvaćenih organizama mogu biti korisni u određivanju terapijske strategije u bolesnika s poznatim ili pretpostavljenim bakterijskim infekcijama koje nisu osjetljive na karbapenem.
IMP DETEKTIRAN; VIM DETEKTIRAN; NDM DETEKTIRAN; KPC DETEKTIRAN; OXA48 DETEKTIRAN (IMP DETECTED; VIM DETECTED; NDM DETECTED; KPC DETECTED; OXA48 DETECTED) Pogledajte sliku 11.	<p>Detektirane ciljane sekvence DNK IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCR amplifikacija ciljanih DNK-a IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48 daje vrijednosti Ct unutar važećih raspona te krajnje vrijednosti fluorescencije iznad praga. • SPC: nije primjenjivo. SPC se zanemaruje jer ciljane amplifikacije DNK-a IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48 mogu biti konkurentne toj kontroli. • PCC: ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. • Terapeutske strategije koje uključuju antimikrobne agense, kao što su kombinacije beta-laktamskih inhibitora / inhibitora beta-laktamaze s ograničenom ili nikakvom aktivnošću protiv bakterija koje proizvode metalo-beta-laktamaze, treba primjenjivati s oprezom. Rezultati testa Xpert Carba-R koji pokazuju prisutnost metalo-beta-laktamaznog gena <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} i <i>bla</i>_{NDM} iz čistih kolonija zahvaćenih organizama mogu biti korisni u određivanju terapijske strategije u bolesnika s poznatim ili pretpostavljenim bakterijskim infekcijama koje nisu osjetljive na karbapenem.

Tablica 1. Reprezentativni rezultati testa Xpert Carba-R i njihovo tumačenje (nastavak)

Rezultat	Tumačenje
IMP NIJE DETEKTIRAN; VIM NIJE DETEKTIRAN; NDM NIJE DETEKTIRAN; KPC NIJE DETEKTIRAN; OXA48 NIJE DETEKTIRAN (IMP NOT DETECTED; VIM NOT DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED) Pogledajte sliku 12.	<p>Nisu detektirane ciljane sekvence DNK IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ciljane sekvence DNK IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48 nisu prisutne ili su prisutne u količinama koje test ne detektira. • SPC: ZADOVOLJAVA (PASS); PCR amplifikacija ciljane sekvence DNK SPC daje vrijednost Ct unutar važećeg raspona te krajnju vrijednost fluorescencije iznad praga. • PCC: ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
NEVAŽEĆE (INVALID) Pogledajte sliku 13.	<p>Ne može se detektirati prisutnost ili odsutnost ciljanih sekvenci DNK IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48. S pomoću uputa u odjeljku 14, Postupak ponovnog testiranja ponovite test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: NE ZADOVOLJAVA (FAIL); nema PCR amplifikacije ciljane sekvence DNK ili Ct SPC-a nije unutar važećeg raspona te je krajnja vrijednost fluorescencije ispod praga. • PCC: ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
POGREŠKA (ERROR)	<p>Ne može se detektirati prisutnost ili odsutnost ciljanih sekvenci DNK IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48. S pomoću uputa u odjeljku 14, Postupak ponovnog testiranja ponovite test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • PCC: NE ZADOVOLJAVA (FAIL)*; jedna ili više rezultata provjere sonde ne zadovoljavaju. PCC je vjerojatno bio neuspješan zato što je reakcijska epruveta pogrešno napunjena ili zato što je uočen problem s cjelovitosti sonde. <p>* Ako je provjera sonde bila uspješna, pogrešku je uzrokovao kvar neke komponente sustava.</p>
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	<p>Ne može se detektirati prisutnost ili odsutnost ciljanih sekvenci DNK IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48. S pomoću uputa u odjeljku 14, Postupak ponovnog testiranja ponovite test. Prikupljeno je nedovoljno podataka za dobivanje rezultata ispitivanja (na primjer, korisnik je zaustavio test koji je bio u tijeku ili je došlo do nestanka električne energije).</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • PCC: nije primjenjivo

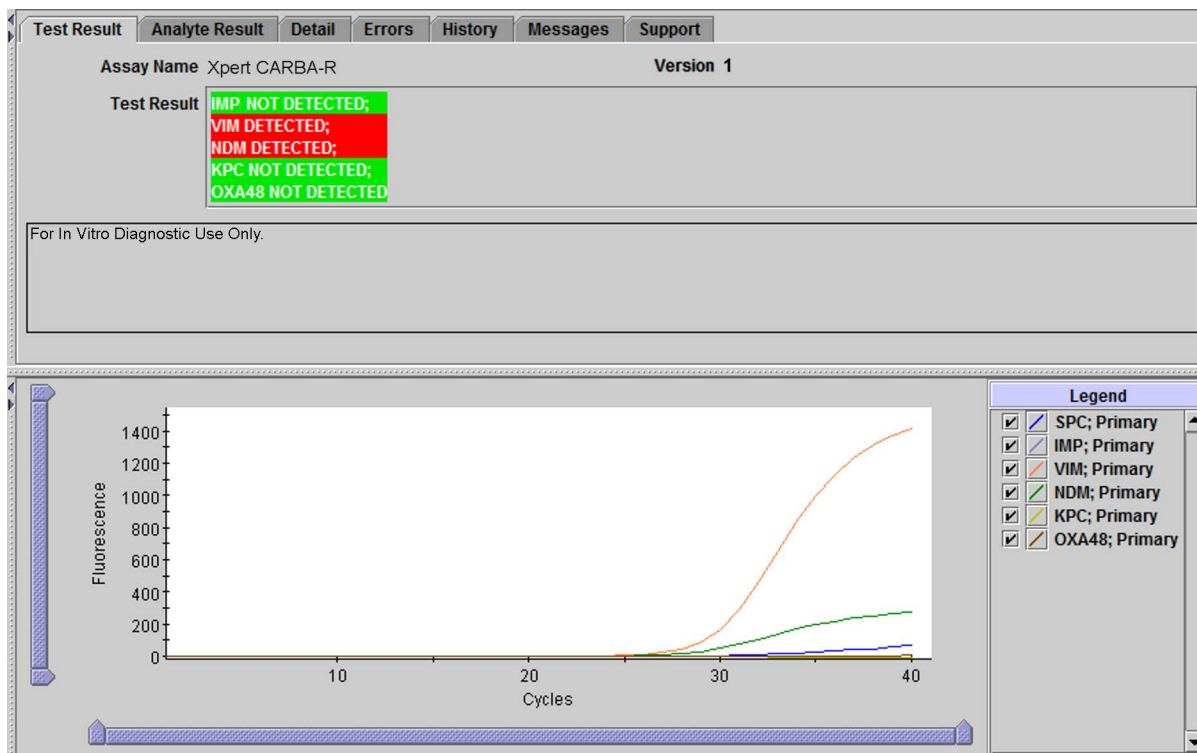


Slika 5. Test Carba-R – detektiran IMP

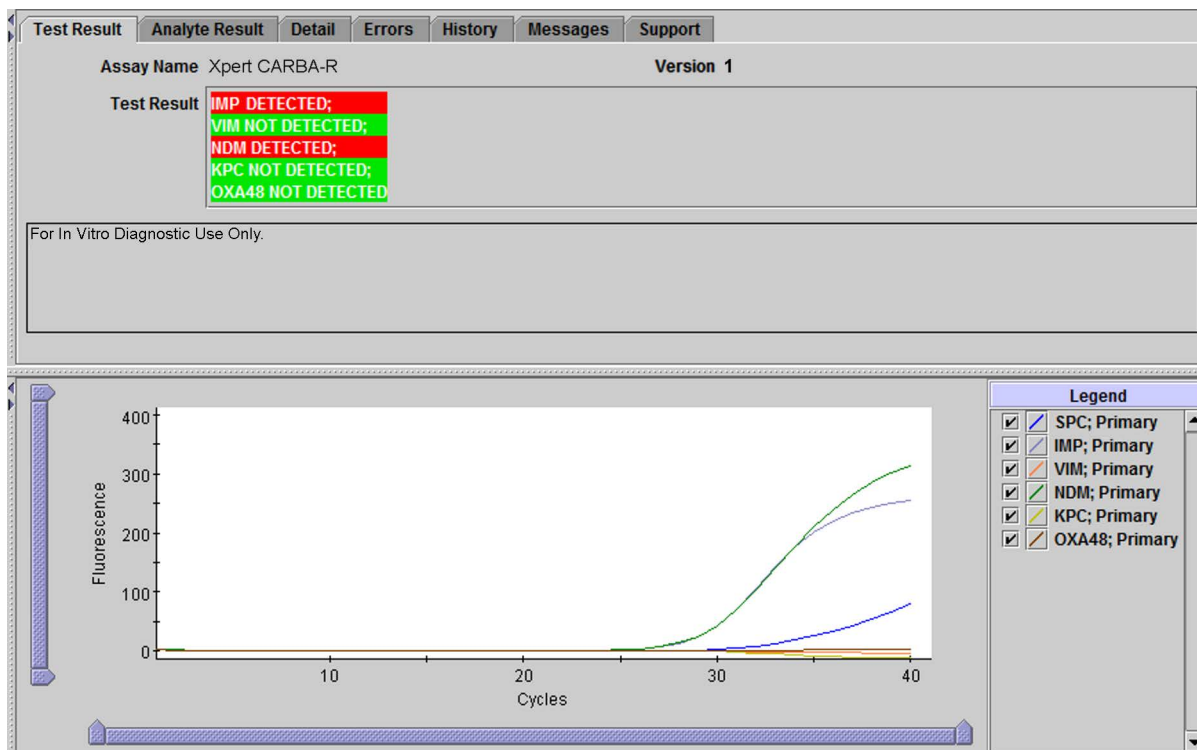


Slika 6. Test Carba-R – detektiran VIM

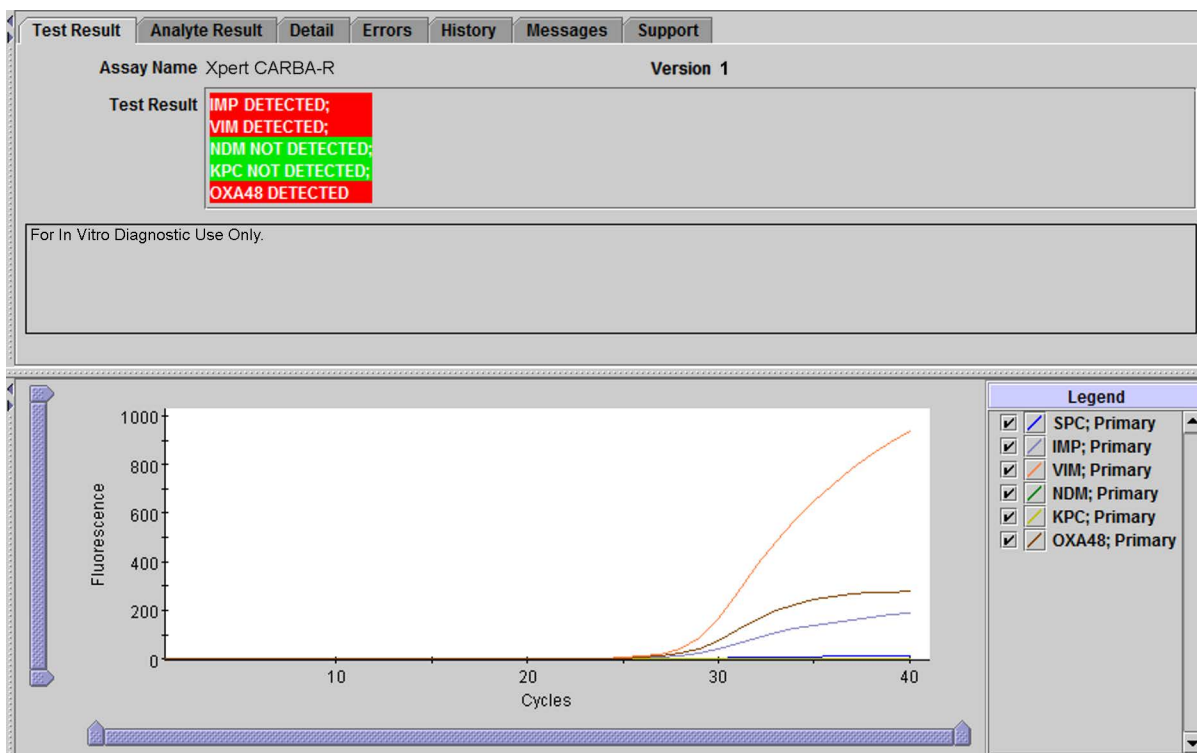
Napomena Nisu prikazani primjeri NDM pozitivnih, KPC pozitivnih i OXA pozitivnih uzoraka.



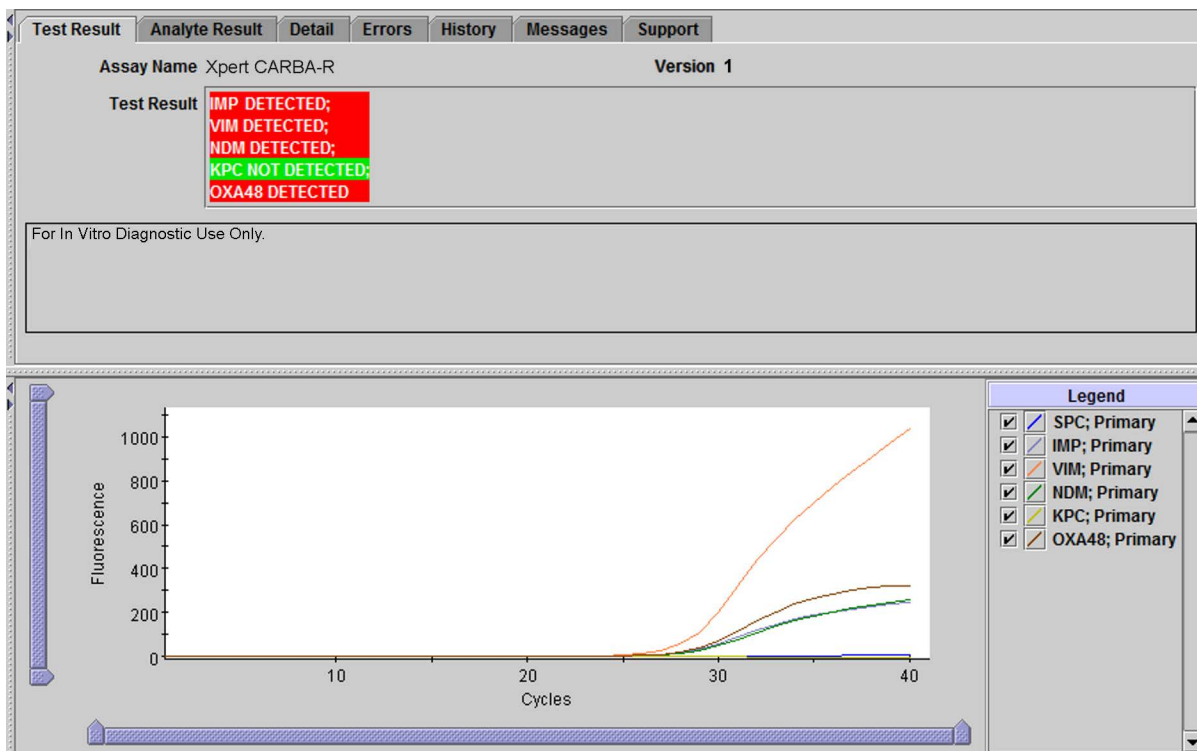
Slika 7. Test Carba-R – detektirani VIM i NDM



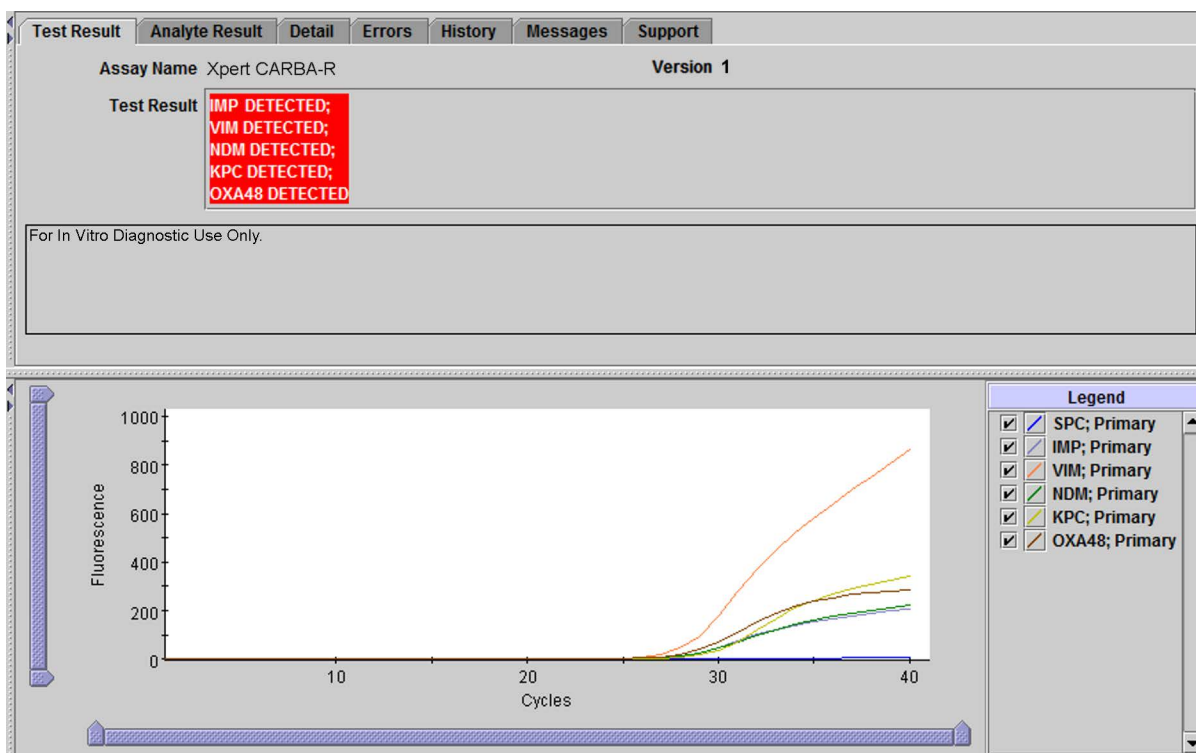
Slika 8. Test Carba-R – detektirani IMP i NDM



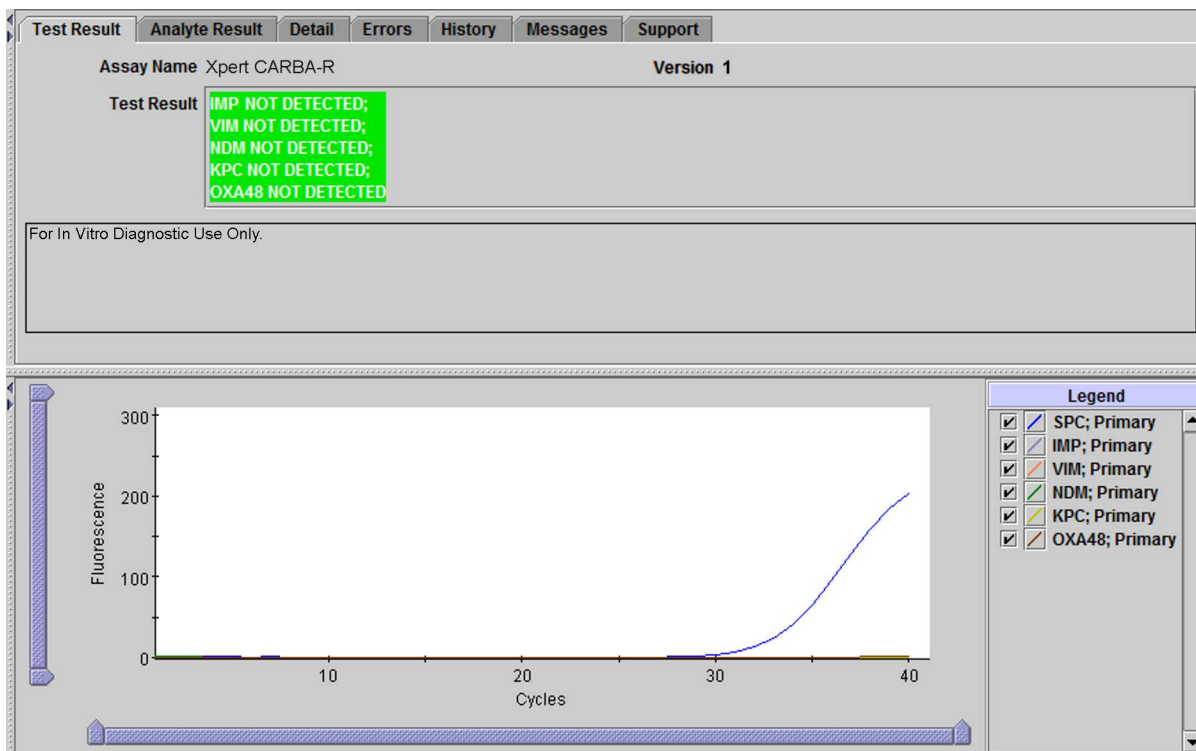
Slika 9. Test Carba-R – detektirani IMP, VIM i OXA-48



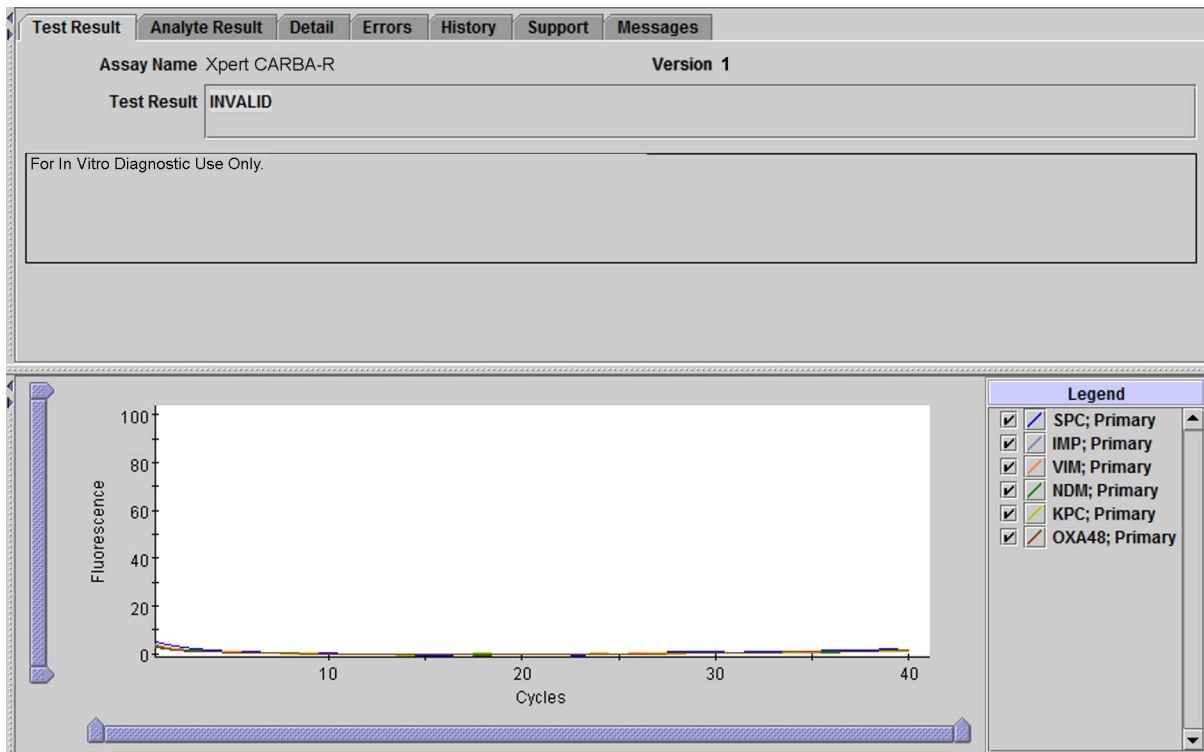
Slika 10. Test Carba-R – detektirani IMP, VIM, NDM i OXA-48



Slika 11. Test Carba-R – detektirani IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48



Slika 12. Test Carba-R – nisu detektirani IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48



Slika 13. Test Carba-R – nevažeci

13 Razlozi za ponavljanje testa

Ponovite test s pomoću novog uložka (nemojte ponovo upotrijebiti stari) i nove bočice u s reagensom za uzorak. Da biste ponovili postupak, pogledajte odjeljak 14, Postupak ponovnog testiranja.

- Rezultat **NEVAŽEĆE (INVALID)** ukazuje na to da kontrola SPC nije bila uspješna. Uzorak nije ispravno obrađen ili je PCR spriječen ili volumen dodanog uzorka nije bio adekvatan.
- Rezultat **POGREŠKA (ERROR)** ukazuje na to da je kontrola za provjeru sonde bila neuspješna i da je test prekinut vjerojatno zato što je reakcijska epruveta bila pogrešno napunjena ili je uočen problem s cjelovitošću sonde za reagens ili je premašeno maksimalno ograničenje tlaka ili je opažena pogreška u položaju ventila.
- Poruka **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** označava da je prikupljeno nedovoljno podataka. Na primjer, korisnik je zaustavio test koji je bio u tijeku ili je došlo do nestanka električne energije.
- Ako vanjska kontrola ne funkcionira kako valja, ponovite vanjski kontrolni test i/ili se Tehničkoj podršci tvrtke Cepheid za pomoć.

14 Postupak ponovnog testiranja

14.1 Postupak ponovnog testiranja uzorka rektalnog i perirektalnog brisa

1. Izvadite novi uložak, novu bočicu s reagensom za uzorak i novu prijenosnu pipetu iz kompleta.
2. Uklonite ostatak brisa iz transportnog spremnika.
3. Umetnite bris u novu bočicu s reagensom za uzorak. Držite bris za štapić blizu ruba bočice, podignite bris nekoliko milimetara od dna bočice i savijte štapić preko ruba bočice kako bi se slomio na označenom mjestu, tako da bris ostane dovoljno kratak da stane u bočicu, ali i da se omogući čvrsto zatvaranje poklopca.
4. Čvrsto zatvorite novu bočicu s reagensom za uzorak i promiješajte u vrtložnoj miješalici 10 sekundi pri velikoj brzini.
5. Otvorite poklopac uložka. Upotrijebite priloženu prijenosnu pipetu, aspirirajte reagens za uzorak do oznake na pipeti, a zatim prenesite materijal u komoru za uzorak uložka testa Xpert Carba-R.
6. Zatvorite poklopac uložka i stavite uložak u instrument GeneXpert u roku od 30 minuta. Slijedite upute u odjeljku 10.2, Pokretanje testa.

14.2 Postupak ponovnog testiranja uzorka bakterijskog izolata

1. Izvadite novi uložak, novu bočicu s reagensom za uzorak i novu prienosnu pipetu iz kompleta.
2. Cijeli sadržaj ostatka uzorka prenesite u bočicu s reagensom za uzorak u novu bočicu s reagensom za uzorak.
3. Čvrsto zatvorite novu bočicu s reagensom za uzorak i promiješajte u vrtložnoj miješalici 10 sekundi pri velikoj brzini.
4. Otvorite poklopac uloška. Upotrijebite priloženu prienosnu pipetu, aspirirajte reagens za uzorak do oznake na pipeti, a zatim prenesite materijal u komoru za uzorak uloška testa Xpert Carba-R.
5. Zatvorite poklopac uloška i stavite uložak u instrument GeneXpert u roku od 30 minuta. Slijedite upute u odjeljku 10.2, Pokretanje testa.

Napomena

Za bakterijske izolate ne provodite postupak ponovnog testiranja više od jednom jer ponovljena razrjeđivanja mogu dati lažno negativne rezultate.

15 Ograničenja

15.1 Opća ograničenja

- Test Xpert Carba-R otkriva *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP} na uzorcima rektalnog i perirektalnog brisa i čiste kolonije te nije za bakterijsku identifikaciju. Otkrivanje tih sekvenci gena ne ukazuje na prisutnost živih organizama.
- Test Xpert Carba-R nije alat za otkrivanje podvrsta i ne otkriva varijante gena *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC} ili *bla*_{OXA-48}.
- Pokazalo se da određene vrste bakterija, kao što su *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* pokazuju otpornost na karbapeneme zbog mehanizama intrinzične otpornosti.
- Otkrivanje drugih gena OXA-karbapenemaza, osim *bla*_{OXA-48} i *bla*_{OXA-181}, nije procijenjeno u ispitivanju.
- *In silico* analize koje su upotrijebljene za predviđanje varijanti otkrivene testom bile su zasnovane na usporedbi ciljnih sekvenci gena dostupnih u GenBanku s oligonukleotidima početnice/sonde testa Xpert Carba-R i sekvencom amplicona za svaki ciljni gen. Pretraživanja u alatu BLAST za *in silico* analize provedena su 2014. – 2015. Nije provedena *in silico* analiza novih varijantnih sekvenci gena pohranjenih u bazu podataka nakon 2015. godine za pet ciljnih gena.
- Mutacije ili polimorfizmi u veznim područjima početnice ili sonde mogu utjecati na detekciju struje, novih ili nepoznatih varijanti *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP}, što dovodi do lažno negativnih rezultata.
- Test Xpert Carba-R generirat će negativan rezultat za IMP prilikom testiranja uzoraka koji sadrže sekvence gena IMP-7, IMP-13 ili IMP-14.
- Provođenje testa Xpert Carba-R s neciljnim genima karbapenemaza, osim *bla*_{SPM}, *bla*_{SME} i *bla*_{IMI} nije poznato.
- Kako otkrivanje sekvenci gena *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP} ovisi o broju organizama prisutnih u uzorku, pouzdani rezultati ovise o pravilnom rukovanju i skladištenju uzoraka.
- Testiranje testom Xpert Carba-R treba upotrebljavati kao dodatak drugim dostupnim metodama.
- Rezultati testa Xpert Carba-R ponekad mogu biti **NEVAŽEĆI (INVALID)** zbog neuspjele kontrole SPC ili rezultirati porukom **POGREŠKA (ERROR)** ili **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** te može biti potrebno ponovno testiranje koje može dovesti do kašnjenja u dobivanju konačnih rezultata.

15.2 Ograničenja rektalnih i perirektalnih uzoraka

- Provođenje testa Xpert Carba-R nije ispitano s uzorcima rektalnih ili perirektalnih brisova pedijatrijskih bolesnika.
- Analitička ispitivanja koje upotrebljavaju kombinacije dvije bakterijske populacije na uzorcima brisova dobivenih u kontroliranim uvjetima ukazuju na to da kad se bakterijske vrste koje proizvode karbapenemazu inokuliraju blizu granica otkrivanja, a druge vrste bakterija koje proizvode karbapenemazu prisutne su u koncentracijama jednakim ili većim od 5×10^6 CFU-a/brisa, cilj niske koncentracije možda se neće otkriti. Kokolonizacija s dva ili više organizama koji proizvode karbapenemazu zabilježena je pri upotrebi testa Xpert Carba-R, ali je rijetka. Nedostatak otkrivanja drugog cilja trebao bi imati minimalan utjecaj na liječenje bolesnika jer bi se uspostavili postupci izolacije za bolesnike koji bi pokazali pozitivan rezultat za organizam koji proizvodi karbapenemazu.
- Interferencija s testom Xpert Carba-R može se primijetiti za barijev sulfat pri > 0,1 % w/v i Pepto-Bismol pri > 0,01 % w/v u testovima s uzorcima matrice rektalnog brisa.
- Interferencija s testom Xpert Carba-R može se primijetiti za barijev sulfat pri > 0,1 % w/v i Pepto-Bismol pri > 0,025 % w/v u testovima s uzorcima matrice perirektalnog brisa.
- U uzorcima rektalnih brisova koji sadrže cilj VIM mogu se pojaviti interferencije ako je fekalna mast prisutna u koncentraciji od 0,25 % w/v, što dovodi do graničnih vrijednosti odgođenog ciklusa.

- Pored testiranih grupa bakterija *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* u ispitivanju u kontroliranim uvjetima, procijenjene su i druge vrste bakterija osim *Enterobacteriaceae*: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzae* (1), *Pseudomonas putida* (2) i *Empedobacter brevis* (1). Nije procijenjeno provođenje testa Xpert Carba-R s drugim vrstama bakterije osim *Enterobacteriaceae* pored tih šest vrsta i stoga nije poznato.
- Za uzorke rektalnog brisa test Xpert Carba-R pokazao je smanjeno pozitivno postotno slaganje (PPA od 55,6 %) za otkrivanje sekvence gena *bla_{VIM}* u bakteriji *Pseudomonas aeruginosa*. Četiri (4) lažno negativna rezultata primijećena su u testu u uzorcima u kojima je referentnom metodom pronađena bakterija *Pseudomonas aeruginosa* koja sadrži sekvencu *bla_{VIM}*.
- Za uzorke rektalnog brisa test Xpert Carba-R pokazao je smanjeno pozitivno postotno slaganje (PPA od 85,7 %) za otkrivanje sekvence gena *bla_{IMP}* u bakteriji *Acinetobacter baumannii* tijekom ispitivanja u kontroliranim uvjetima. Osim toga, opaženo je nisko postotno slaganje (86,1 %) među ispitivačkim lokacijama za ispitivanje reproduciranja rezultata s uzorcima koji su sadržavali niske koncentracije organizma sa sekvencom gena *bla_{IMP}*.
- Anaerobi otporni na karbapenem koji su potencijalno prisutni u uzorcima fekalija nisu ispitani testom Xpert Carba-R.
- Geni *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* i/ili *bla_{IMP}* na uzorcima rektalnog i perirektalnog brisa mogu se otkriti u drugim organizmima osim bakterija *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*.
- Provođenje testa Xpert Carba-R s osjetljivim izolatima koji sadrže sekvence gena *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* i/ili *bla_{IMP}* nije u potpunosti procijenjeno.

15.3 Ograničenja čiste kolonije

- Za čiste kolonije provođenje testa Xpert Carba-R s drugim bakterijama osim bakterija *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ili *Acinetobacter baumannii* nije procijenjeno. Prije testiranja na testu Xpert Carba-R treba identificirati organizme i utvrditi status neosjetljivosti na karbapenem.
- Pogrešni rezultati testa mogu se javiti zbog neodgovarajućih tehnika uporabe kulture, nepoštivanja preporučenih postupaka za pripremu suspenzije od 0,5 McFarlanda, postupaka rukovanja i skladištenja, tehničke pogreške, miješanja uzoraka ili zbog toga što je broj organizama u uzorku prenizak da bi se otkrio testom. Da bi se izbjegli pogrešni rezultati, potrebno je pažljivo se pridržavati ovih uputa.

16 Očekivane vrijednosti

U kliničkom ispitivanju testa Xpert Carba-R procijenjeno je ukupno 2543 uzorka, koji su se sastojali od uzoraka rektalnog i perirektalnog brisa te uzoraka uzetih u kontroliranim uvjetima na 8 ispitivačkih lokacija unutar i izvan SAD-a. Rezultati testa Xpert Carba-R u usporedbi s kulturom i dvosmjernom analizom sekvence DNK prema ciljnom genu za svaki od prospektivnih kombiniranih uzoraka i uzoraka iz kontroliranih uvjeta prikazani su u tablici 2.

U zasebnom kliničkom ispitivanju testa Xpert Carba-R procijenjeno je ukupno 467 bakterijskih izolata na 4 ispitivačke lokacije unutar i izvan SAD-a. Rezultati testa Xpert Carba-R u usporedbi s dvosmjernom analizom sekvence DNK prema ciljnom genu za svaki od dvije vrste agara prikazani su u tablici 8, tablici 9, tablici 10, tablici 11 i tablici 12.

17 Značajke radnog učinka

17.1 Klinička učinkovitost – uzorci rektalnog ili perirektalnog brisa

Karakteristike učinkovitosti testa Xpert Carba-R s uzorcima rektalnog i perirektalnog brisa utvrđene su u ispitivanju na više ispitivačkih lokacija. Pozitivno postotno slaganje (PPA) i negativno postotno slaganje (NPA) testa Xpert Carba-R procijenjeni su u odnosu na referentnu metodu uporabe kulture (MacConkeyjev bujon za obogaćivanje) i PCR/dvosmjernom analizom sekvence DNK.

Osam ispitivačkih lokacija različitih geografskih položaja (šest u SAD-u i dva u Europi) prospektivno su sakupile parne uzorke rektalnih ili perirektalnih brisova od osoba koje su bile hospitalizirane ili u ustanovi za dugoročnu skrb. Iz ispitivanja su isključeni visoko zaprljani uzorci rektalnog i perirektalnog brisa prema uputama u odjeljku 9 (Priprema i čuvanje uzoraka). Zbog niske prevalencije svakog od ciljnih gena testa Xpert Carba-R u odsutnosti epidemije, u ispitivanje su uključeni i uzorci iz kontroliranih uvjeta.

Za testiranje testa Xpert Carba-R upotrijebljen je jedan bris od para brisova. Drugi bris inokuliran je u MacConkeyjev bujon za obogaćivanje i upotrijebljen je za testiranje referentne metode. Laboratorij za referentnu kulturu utvrdio je prisutnost organizama neosjetljivih na karbapenem uzgojem MacConkeyjevog bujona za obogaćivanje iz svakog uzorka. MacConkeyjev bujon za obogaćivanje prvo testiran je na prisustvo organizama neosjetljivih na karbapenem stavljanjem bujona na podlogu MacConkeyjevog agara s diskom meropenema. Za uzorke koji su pokazali rast gram-negativnih bakterija oko diska meropenema potvrda o neosjetljivosti na karbapenem utvrđena je na izoliranim kolonijama s pomoću disk-difuzijskom metodom (prema dokumentu CLSI M02 kao i dokumenta CLSI M100²⁰). DNK ekstrahirano iz izolata koji nisu osjetljivi na karbapenem pročišćen je, kvantificiran i amplificiran s pomoću početnica specifičnih za svih pet ciljnih gena; a amplificirana područja uključivala su više baza od područja amplificiranih testom Xpert Carba-R. Proizvodnja produkta amplifikacije odgovarajuće veličine potvrđena je na bioanalizatoru Agilent 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA).

Ako su trake prikazane na bioanalizatoru odgovarale očekivanoj veličini amplikona iz bilo kojeg od pet ciljnih gena otkrivenih testom Xpert Carba-R, amplikon izolata poslan je u nezavisni laboratorij na referentnu dvosmjernu analizu sekvenci, koja je potvrđena za otkrivanje pet ciljeva u testu Xpert Carba-R. Ako na bioanalizatoru nisu prikazane trake niti za jedan od pet ciljnih gena, izolat nije poslan na analizu sekvence, a rezultat referentne metode smatrao se negativnim za pet ciljnih gena.

Potencijalni rezultati uzoraka dobiveni testom Xpert Carba-R u usporedbi s referentnom metodom

Ukupno 802 prospektivnih uzorka rektalnog brisa početno je uključeno u to kliničko ispitivanje te je od njih 785 bilo prikladno za uključivanje. Od 785 prihvatljivih uzoraka, 755 uzoraka uključeno je u konačni skup podataka nakon isključenja na temelju protokolarnih odstupanja (uključujući 16 organizama bakterije *Stenotrophomonas maltophilia* koji su bili isključeni zbog svoje intrinzične otpornosti na testirane karbapeneme).

Ukupno 963 prospektivnih uzorka perirektalnog brisa početno je uključeno u to kliničko ispitivanje te je od njih 947 bilo prikladno za uključivanje. Od 947 prihvatljivih uzoraka, 924 uzorka uključena su u konačni skup podataka nakon isključenja na temelju protokolarnih odstupanja (uključujući 10 organizama bakterije *Stenotrophomonas maltophilia*, jedan organizam bakterije *Pseudomonas putida* i jedan organizam bakterije *Pseudomonas stutzeri* koji su bili isključeni zbog kriterija ispitivanja).

Pri testiranju prospektivnih uzoraka rektalnog brisa test Xpert Carba-R pokazao je raspon PPA-a od 60,0 % do 100 % za četiri cilja testa (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} i bla_{OXA-48}) u odnosu na referentnu metodu (tablica 2). NPA za sekvence gena bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} i bla_{IMP} kretao se u rasponu od 98,6 % do 99,9 % u odnosu na referentnu metodu (tablica 2).

Pri testiranju prospektivnih uzoraka perirektalnog brisa test Xpert Carba-R pokazao je PPA od 100 % za tri cilja testa (bla_{NDM} , bla_{KPC} i bla_{OXA-48}) u odnosu na referentnu metodu. NPA za sekvence gena bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} i bla_{IMP} kretao se u rasponu od 99,6 % do 100 % u odnosu na referentnu metodu (tablica 2).

Na kombiniranim uzorcima rektalnog i perirektalnog brisa test Xpert Carba-R pokazao je raspon PPA-a od 60,0 % do 100 % za četiri cilja testa (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} i bla_{OXA-48}) u odnosu na referentnu metodu (tablica 2). NPA za sekvence gena bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} i bla_{IMP} kretao se u rasponu od 99,3 % do 99,9 % u odnosu na referentnu metodu (tablica 2).

Za uzorke s neusklađenim rezultatima (test Xpert Carba-R bio je pozitivan za ciljni gen, ali organizam neosjetljiv na karbapenem nije bio izoliran referentnom kulturom), provedena je neusklađena analiza upotrebom dvosmjernog sekvenciranja na DNK-u ekstrahiranom izravno iz MacConkeyjevog bujona za obogaćivanje. Rezultati testiranja nepodudaranja nalaze se u fusnotama u tablici 2.

Tablica 2. Učinak testa Xpert Carba-R u odnosu na referentnu kulturu + sekvenciranje – prospektivni uzorcis

Uzorak Vrsta	Cilj	N	TP	FP	TN	FN	PPA (interval pouzdanosti od 95 %)	NPA (interval pouzdanosti od 95 %)
Rektalni ^a	IMP	755	0	1 ^b	754	0	N/P	99,9 % (99,3 – 100)
	VIM	755	6	8 ^c	737	4	60,0 % (31,3 – 83,2)	98,9 % (97,9 – 99,5)
	NDM	755	7	3 ^d	745	0	100 % (64,6 – 100)	99,6 % (98,8 – 99,9)
	KPC	755	29	6 ^{e,f}	720	0	100 % (88,3 – 100)	99,2 % (98,2 – 99,6)
	OXA-48	755	29	10 ^g	715	1	96,7 % (83,3 – 99,4)	98,6 % (97,5 – 99,2)
Perirektalni ^h	IMP	924	0	0	924	0	N/P	100 % (99,6 – 100)
	VIM	924	0	0	924	0	N/P	100 % (99,6 – 100)
	NDM	924	1	0	923	0	100 % (20,7 – 100)	100 % (99,6 – 100)
	KPC	924	2	4 ⁱ	918	0	100 % (34,2 – 100)	99,6 % (98,9 – 99,8)
	OXA-48	924	1	1 ^j	922	0	100 % (20,7 – 100)	99,9 % (99,4 – 100)
Kombinirano ^{a,h}	IMP	1679	0	1 ^b	1678	0	N/P	99,9 % (99,7 – 100)
	VIM	1679	6	8 ^c	1661	4	60,0 % (31,3 – 83,2)	99,5 % (99,1 – 99,8)
	NDM	1679	8	3 ^d	1668	0	100 % (67,6 – 100)	99,8 % (99,5 – 99,9)
	KPC	1679	31	10 ^k	1638	0	100 % (89,0 – 100)	99,4 % (98,9 – 99,7)
	OXA-48	1679	30	11 ^l	1637	1	96,8 % (83,8 – 99,4)	99,3 % (98,8 – 99,6)

N = broj, TP = stvarno pozitivno, FP = lažno pozitivno, TN = stvarno negativno, FN = lažno negativno

- Od 755 prospektivnih uzoraka rektalnog brisa koji su procijenjeni u ispitivanju, iz 636 uzoraka nije se dobio izolat kulture. Od preostalih 119 uzoraka, pronađeno je 112 organizama koji nisu osjetljivi na karbapenem s pomoću referentne kulture uz 7 organizama osjetljivih na karbapenem [*Pseudomonas aeruginosa* (5); *Escherichia coli* (1) i *Enterobacter cloacae* (1)].
- Rezultati testiranja sekvenciranjem: 1 od 1 bio je IMP negativan.
- Rezultati testiranja sekvenciranjem: 2 od 8 bila su VIM pozitivna; 6 od 8 bilo je VIM negativno.
- Rezultati testiranja sekvenciranjem: 1 od 3 bio je NDM pozitivan; 2 od 3 bila su NDM negativna.
- Rezultati testiranja sekvenciranjem: 1 od 6 bio je KPC pozitivan; 5 od 6 bilo je KPC negativno.
- Ispitivačka lokacija zabilježila je da je ispitanik bio na ertapenemu tijekom uzimanja uzoraka.
- Rezultati testiranja sekvenciranjem: 3 od 10 bila su OXA-48 pozitivna; 7 od 10 bilo je OXA-48 negativno.
- Od 924 prospektivna uzoraka perirektalnog brisa koji su procijenjeni u ispitivanju, iz 891 uzoraka nije se dobio izolat kulture. Od preostalih 33 uzoraka, pronađen je 31 organizam koji nisu osjetljivi na karbapenem s pomoću referentne kulture uz dva organizma osjetljiva na karbapenem (*Pseudomonas aeruginosa*).
- Rezultati testiranja sekvenciranjem: 4 od 4 bila su KPC negativna.
- Rezultati testiranja sekvenciranjem: 1 od 1 bio je OXA-48 negativan.
- Rezultati testiranja sekvenciranjem: 1 od 10 bio je KPC pozitivan; 9 od 10 bilo je KPC negativno.
- Rezultati testiranja sekvenciranjem: 3 od 11 bila su OXA-48 pozitivna; 8 od 11 bilo je OXA-48 negativno.

Učink testu Xpert Carba-R na kombiniranim prospektivnim rektalnim i perirektalnim uzorcima prikazan je u tablici 3 prema vrstama. Samo su organizmi za koje je prikupljen barem jedan pozitivan uzorak navedeni u tablici 3.

Tablica 3. Učink testu Xpert Carba-R u odnosu na referentnu kulturu + sekvenciranje prema vrsti organizma – prospektivni rektalni i perirektalni uzorci

Vrste ^a	Cilj	N	TP	FP	TN	FN	PPA (interval pouzdanosti od 95 %)	NPA (interval pouzdanosti od 95 %)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	IMP	1	0	0	1	0	NP	100 % (20,7 – 100)
	VIM	1	0	0	1	0	NP	100 % (20,7 – 100)
	NDM	1	0	0	1	0	NP	100 % (20,7 – 100)
	KPC	1	1	0	0	0	100 % (20,7 – 100)	NP
	OXA-48	1	0	0	1	0	NP	100 % (20,7 – 100)
<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP	4	0	0	4	0	NP	100 % (51,0 – 100)
	VIM	4	1	0	3	0	100 % (20,7 – 100)	100 % (43,9 – 100)
	NDM	4	0	0	4	0	NP	100 % (51,0 – 100)
	KPC	4	0	0	4	0	NP	100 % (51,0 – 100)
	OXA-48	4	1	0	3	0	100 % (20,7 – 100)	100 % (43,9 – 100)
<i>E. coli</i>	IMP	10	0	0	10	0	NP	100 % (72,3 – 100)
	VIM	10	0	0	10	0	NP	100 % (72,3 – 100)
	NDM	10	3	0	7	0	100 % (43,9 – 100)	100 % (67,6 – 100)
	KPC	10	2	0	8	0	100 % (34,2 – 100)	100 % (64,6 – 100)
	OXA-48	10	3	0	7	0	100 % (43,9 – 100)	100 % (64,6 – 100)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP	1	0	0	1	0	NP	100 % (20,7 – 100)
	VIM	1	0	0	1	0	NP	100 % (20,7 – 100)
	NDM	1	0	0	1	0	NP	100 % (20,7 – 100)
	KPC	1	0	0	1	0	NP	100 % (20,7 – 100)
	OXA-48	1	1	0	0	0	100 % (20,7 – 100)	NP

Tablica 3. Učinak testa Xpert Carba-R u odnosu na referentnu kulturu + sekvenciranje prema vrsti organizma – prospektivni rektalni i perirektalni uzorci (nastavak)

Vrste ^a	Cilj	N	TP	FP	TN	FN	PPA (interval pouzdanosti od 95 %)	NPA (interval pouzdanosti od 95 %)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP	63	0	1	62	0	NP	98,4 % (91,5 – 99,7)
	VIM	63	0	1	62	0	NP	98,4 % (91,5 – 99,7)
	NDM	63	5	1	57	0	100 % (56,6 – 100)	98,3 % (90,9 – 99,7)
	KPC	63	28	1	34	0	100 % (87,9 – 100)	97,1 % (85,5 – 99,5)
	OXA-48	63	25	3	34	1	96,2 % (81,1 – 99,3)	91,9 % (78,7 – 97,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	58	0	0	58	0	NP	100 % (93,8 – 100)
	VIM	58	5	0	49	4	55,6 % (26,7 – 81,1)	100 % (92,7 – 100)
	NDM	58	0	1	57	0	NP	98,3 % (90,9 – 99,7)
	KPC	58	0	2	56	0	NP	96,6 % (88,3 – 99,1)
	OXA-48	58	0	0	58	0	NP	100 % (93,8 – 100)

a. Pronađene su bakterije *Acinetobacter baumannii* (14) i *Enterobacter amnigenus* (1), ali nisu sadržavale ciljne sekvence upotrebom referentne metode ili testa Xpert Carba-R.

Testom Xpert Carba-R otkrilo se više ciljeva u devet prospektivnih uzoraka. Pojediniosti su navedene u tablici 4, zajedno s nepodudarajućim rezultatom sekvenciranja.

Tablica 4. Otkriveni prospektivni rektalni i perirektalni uzorci s višestrukim ciljevima

Uzorak	Ciljevi otkriveni testom Xpert Carba-R	Ciljevi otkriveni referentnim sekvenciranjem	Rezultati testiranja nepodudaranja – ciljevi otkriveni referentnim sekvenciranjem
1	KPC, OXA-48	NEG	NEG
2	VIM, KPC	NEG ^a	NEG ^a
3	VIM, OXA-48	OXA-48	OXA-48
4	KPC, OXA-48	KPC	KPC, OXA-48
5	NDM, OXA-48	NDM	NDM, OXA-48
6	VIM, NDM	NEG ^a	NEG
7	NDM, KPC	KPC	NDM, KPC
8	VIM, KPC	VIM	VIM, KPC
9	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48	NA

a. Organizam nije izoliran iz referentne kulture, stoga nije provedeno referentno sekvenciranje.

Rezultati uzoraka iz kontroliranih uvjeta dobiveni testom Xpert Carba-R u usporedbi s referentnom metodom

U sklopu kliničkog ispitivanja testirano je i ukupno 864 uzorka iz kontroliranih uvjeta (432 pripremljena u matrici rektalnog brisa i 432 u matrici perirektalnog brisa).

Pored testiranih grupa bakterija *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* u ispitivanju u kontroliranim uvjetima, procijenjeno je i 5 drugih vrsta bakterija osim sojeva bakterije *Enterobacteriaceae*: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzae* (1), *Pseudomonas putida* (2) i *Empedobacter brevis* (1).

Prilikom testiranja na uzorcima iz kontroliranih uvjeta test Xpert Carba-R pokazao je raspon PPA-a od 95 % do 100 % u svim ciljevima testa (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} i bla_{IMP}). NPA za sekvence gena bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} i bla_{IMP} bila je 100 % u odnosu na referentnu metodu (tablica 5).

Tablica 5. Učink testu Xpert Carba-R u odnosu na referentnu metodu – uzorci iz kontroliranih uvjeta

Matrica	Cilj	N	TP	FP	TN	FN	PPA (interval pouzdanosti od 95 %)	NPA (interval pouzdanosti od 95 %)
Rektalni	IMP	432	76	0	352	4	95,0 % (87,8 – 98,0)	100 % (98,9 – 100)
	VIM	432	81	0	350	1	98,8 % (93,4 – 99,8)	100 % (98,9 – 100)
	NDM	432	80	0	352	0	100 % (95,4 – 100)	100 % (98,9 – 100)
	KPC	432	80	0	352	0	100 % (95,4 – 100)	100 % (98,9 – 100)
	OXA-48	432	79	0	352	1	98,8 % (93,3 – 99,8)	100 % (98,9 – 100)
Perirektalni	IMP	432	80	0	352	0	100 % (95,4 – 100)	100 % (98,9 – 100)
	VIM	432	82	0	350	0	100 % (95,5 – 100)	100 % (98,9 – 100)
	NDM	432	80	0	352	0	100 % (95,4 – 100)	100 % (98,9 – 100)
	KPC	432	80	0	352	0	100 % (95,4 – 100)	100 % (98,9 – 100)
	OXA-48	432	80	0	352	0	100 % (95,4 – 100)	100 % (98,9 – 100)
Kombinirani	IMP	864	156	0	704	4	97,5 % (93,7 – 99,0)	100 % (99,5 – 100)
	VIM	864	163	0	700	1	99,4 % (96,6 – 99,9)	100 % (99,5 – 100)
	NDM	864	160	0	704	0	100 % (97,7 – 100)	100 % (99,5 – 100)
	KPC	864	160	0	704	0	100 % (97,7 – 100)	100 % (99,5 – 100)
	OXA-48	864	159	0	704	1	99,4 % (96,5 – 99,9)	100 % (99,5 – 100)

Ispitivanje ekvivalencije perirektalnog brisa i rektalnog brisa

Kako bi se pokazala ekvivalentnost uzoraka rektalnog i perirektalnog brisa, provedeno je ispitivanje na jednoj lokaciji koja je uključivala svježe prospektivno prikupljene uzorke rektalnog i perirektalnog brisa od ispitanika koji su dali pristanak i koji su bili hospitalizirani.

Za prikupljanje uzoraka od svakog ispitanika upotrijebljeni su kompleti uparenih brisova isporučeni u uređaju za prikupljanje uzoraka društva Cepheid. Jedan komplet uparenih brisova upotrijebljen je za prikupljanje uzorka perirektalnog brisa, a drugi komplet uparenih brisova upotrijebljen je za prikupljanje uzorka rektalnog brisa. Prvo je prikupljen uzorak perirektalnog brisa nakon čega je slijedio uzorak rektalnog brisa od istog ispitanika. Za testiranje testa Xpert Carba-R upotrijebljen je jedan bris iz svakog kompleta uparenih brisova. Drugi bris iz svakog uparenog kompleta brisova upotrijebljen je za ispitivanje kulture i osjetljivosti kada su jedan ili oba uzorka perirektalnog ili rektalnog brisa bili pozitivni na jedan ili više ciljeva u testu Xpert Carba-R. Nije provedena kultura ako su uzorci perirektalnog ili rektalnog brisa bili negativni u testu Xpert.

Provedeno je dvosmjerno sekvenciranje DNK-a na DNK-u ekstrahiranom iz izoliranih kolonija koja je pokazala neosjetljivost na karbapenem pri upotrebi disk-difuzijske metode CLSI-ja ili iz MacConkeyjevog bujona s diskom meropenema ako je rezultat kulture bio negativan i rezultat testa Xpert Carba-R pozitivan. Rezultati referentne metode nisu upotrijebljeni za promjenu podataka o učinku za ispitivanje ekvivalentnosti brisova.

Ukupno 207 uzorka početno je uključeno u to kliničko ispitivanje te su svi ispunjavali uvjete za uključivanje. Od 207 prihvatljivih uzoraka, 201 uzorak uključen je u konačni skup podataka za analize. Šest uzoraka brisova (4 uzorka perirektalnog brisa i 2 uzorka rektalnog brisa) isključeni su zbog neodređenih rezultata testa Xpert Carba-R.

Od 201 uzorka uključenih u analizu podataka, 92 (45,8 %) prikupljeno je od ispitanica i 109 (54,2 %) od ispitanika. Ukupno 45,8 % (92/201) uzoraka prikupljeno je od svih ispitanika u dobi od 21 i 65 godina, a 54,2 % (109/201) bili su od ispitanika > 65 godina starosti.

Učinak (PPA i NPA) testa Xpert Carba-R na uzorcima perirektalnog brisa utvrđen je u odnosu na rezultate testa Xpert Carba-R na uzorcima uzoraka rektalnog brisa od istog ispitanika. Procjene PPA-a i NPA-a prikazane su u tablici 6. U odnosu na rezultat testa Xpert Carba-R na uzorcima rektalnog brisa, uzorci perirektalnog brisa pokazali su ukupni PPA i NPA od 94,7 % (interval pouzdanosti od 95 %: 75,4 – 99,1) i 97,8 % (interval pouzdanosti od 95 %: 94,5 – 99,1).

Tablica 6. Test Xpert Carba-R – uzorci perirektalnog brisa u odnosu na uzorke rektalnog brisa

Test Xpert Carba-R – uzorci rektalnog brisa				
Test Xpert Carba-R – uzorci perirektalnog brisa		Poz.	Neg.	Ukupno
	Poz.	18 ^a	4 ^b	22
	Neg.	1 ^c	178	179
	Ukupno	19	182	201
PPA			94,7 % (interval pouzdanosti od 95 %: 75,4 – 99,1)	
NPA			97,8 % (interval pouzdanosti od 95 %: 94,5 – 99,1)	

- Za jedan uzorak testiranje rektalnog brisa testom Xpert bilo je pozitivno na KPC i OXA-48, testiranje perirektalnog brisa bilo je pozitivno samo na OXA-48. Uzorak je bio negativan na kulturu i za rektalni i perirektalni bris. Rezultati sekvence iz MacConkeyjevih bujona bili su negativni za perirektalni bris i pozitivni na OXA-48 za rektalni bris.
- I za rektalni i za perirektalni bris 2 od 4 rezultata bila su pozitivna na kulturu, rezultati sekvence izolata bili su pozitivni na OXA-48, 1 od 4 bio je negativan na kulturu i rektalnog i perirektalnog brisa, rezultat sekvence za rektalni bris nije bio dostupan zbog toga jer se izolat nije spremio; perirektalni izolat protumačen je kao osjetljiv na karbapenem i prema planu ispitivanja sekvenciranje nije bilo potrebno.
- Negativan na kulturu i za rektalni i za perirektalni bris, rezultati sekvence iz MacConkeyjevih bujona bila su oba pozitivna na OXA-48.

17.2 Klinička učinkovitost – bakterijski izolati

Značajke radnog učinka testa Xpert Carba-R s bakterijskim izolatima utvrđene su u ispitivanju na više ispitivačkih lokacija usporedbom testa Xpert Carba-R s referentnim dvosmjernim sekvenciranjem amplificiranog ciljnog DNK. Uzorci iz ispitivanja uključivali su bakterijske izolate koji su uzgajani iz krvnog agara i MacConkeyjevog agara.

Da bi bili uključeni u ispitivanje, izolate je prethodno trebalo identificirati kao bakterije *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ili *Acinetobacter baumannii*. Za utvrđivanje osjetljivosti izolati su morali biti srednje osjetljivi ili otporni na meropenem, ertapenem i/ili imipenem prema dokumentu CLSI M100-S24.²² Izolati bakterije *Pseudomonas aeruginosa* ili *Acinetobacter baumannii* morali su biti srednje osjetljivi ili otporni na imipenem ili meropenem. Ti su organizmi intrinzično otporni na ertapenem. Za procjenu specifičnosti izolati su mogli biti srednje osjetljivi ili otporni na meropenem, ertapenem i imipenem prema dokumentu CLSI M100-S24.²² Izolati bakterija *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* trebali su biti osjetljivi na imipenem i meropenem. Izolati su u ispitivanju testirani samo jednom.

Ukupno 489 bakterijskih izolata (431 izolat iz kliničkih zaliha i 58 svježih izolata) početno je uključeno u to kliničko ispitivanje te je od njih 485 bilo prikladno za uključivanje. Neprihvatljivi izolati uključivali su četiri izolata koji su prethodno bili uključeni u ispitivanje.

Od 485 prihvatljivih izolata, 467 izolata (410 izolata iz kliničkih zaliha i 57 svježih izolata) uključeno je u konačni skup podataka upotrijebljenih za analize prikazane u ovom izvješću; dva izolata isključena su jer nije provedeno referentno ispitivanje; a šesnaest je izolata isključeno jer nisu identificirani kao bakterija *Enterobacteriaceae*, *A. baumannii* ili *P. aeruginosa*.

Za testiranje testom Xpert Carba-R dobro izolirane kolonije koje su rasle na svakom od vrste agara razrijeđene su na standardnu ekvivalentnu suspenziju od 0,5 McFarlanda s pomoću metode izravne suspenzije kolonije prema dokumentu CLSI M07-A9.²³

Za referentno sekvenciranje pročišćen je, kvantificiran i amplificiran DNK iz izolata kulture s pomoću početnica specifičnih za svih 5 ciljnih gena koji su dizajnirani kako bi amplificirali veća područja iz ciljeva testa od početnica uključenih u test Xpert Carba-R. Proizvodnja produkta amplifikacije odgovarajuće veličine potvrđena je na bioanalizatoru Agilent 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA).

Ako su trake prikazane na bioanalizatoru odgovarale očekivanoj veličini amplikona iz bilo kojeg od pet ciljnih gena otkrivenih testom Xpert Carba-R, amplikon izolata poslan je u nezavisni laboratorij za referentnu dvosmjernu analizu sekvenci, koja je potvrđena za otkrivanje pet ciljeva u testu Xpert Carba-R. Ako na bioanalizatoru nisu prikazane trake niti za jedan od pet ciljnih gena, izolat nije poslan na analizu sekvence, a rezultat referentne metode smatrao se negativnim za pet ciljnih gena.

Testom Xpert Carba-R otkrilo se više ciljeva u uzorcima iz deset izolata. Pojediniosti su navedene u tablici 7, zajedno s rezultatom referentnog sekvenciranja.

Tablica 7. Otkriveni izolati s više ciljeva

Izolat	Vrsta agara ^a	Ciljevi otkriveni testom Xpert Carba-R	Ciljevi otkriveni referentnim sekvenciranjem
1	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
2	BA	VIM, KPC	VIM
3	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
4	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
5	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
6	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
7	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
8	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
9	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
10	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48

a. BA = krvni agar; MC = MacConkeyjev agar

Prilikom testiranja na izolatima iz krvnog agara test Xpert Carba-R pokazao je ukupnu osjetljivost i specifičnost od 100,0 % (interval pouzdanosti od 95 %: 99,0 – 100) i 98,1 % (interval pouzdanosti od 95 %: 93,2 – 99,5), u odnosu na referentno sekvenciranje izvedeno iz izolata krvnog agara (tablica 8). Kombinirani rezultat definiran je kao pozitivan za test Xpert Carba-R ako je bilo koji od ciljeva bio pozitivan, a negativan za test Xpert Carba-R ako su svi ciljevi bili negativni.

Tablica 8. Xpert Carba-R (krvni agar) u odnosu na referentno sekvenciranje (izolati uzgojeni na krvnom agaru) – kombinirano

Cilj	N	TP	FP	TN	FN	Osjetljivost (interval pouzdanosti od 95 %)	Specifičnost (interval pouzdanosti od 95 %)
Kombinirano	467	364 ^a	2 ^a	101	0	100 % (99,0 – 100)	98,1 % (93,2 – 99,5)

a. Kombinirani rezultati predstavljaju rezultate prema izolatu. Za neke izolate primijećeni su rezultati s više ciljeva.

Prilikom testiranja na izolatima iz krvnog agara, test Xpert Carba-R pokazao je osjetljivost i specifičnost od > 99 % za svaki od pet ciljeva testa, u odnosu na referentno sekvenciranje izvedeno iz izolata iz krvnog agara (tablica 9).

Za izolate s nepodudarajućim rezultatima između testa Xpert Carba-R i referentnog sekvenciranja provedeno je testiranje nepodudaranja s pomoću dvosmjernog sekvenciranja na izolatima iz MacConkeyjevih podloga agara. Rezultati testiranja nepodudaranja nalaze se u fusnotama u tablici 9 i tablici 11.

Tablica 9. Xpert Carba-R (krvni agar) u odnosu na referentno sekvenciranje (izolati uzgojeni na krvnom agaru) – prema ciljut

Cilj	N	TP	FP	TN	FN	Osjetljivost (interval pouzdanosti od 95 %)	Specifičnost (interval pouzdanosti od 95 %)
IMP	467	40	1 ^a	426	0	100 % (91,2 – 100)	99,8 % (98,7 – 100)
VIM	467	82	1 ^b	384	0	100 % (95,5 – 100)	99,7 % (98,5 – 100)
NDM	467	78	0	389	0	100 % (95,3 – 100)	100 % (99,0 – 100)
KPC	467	84	1 ^c	382	0	100 % (95,6 – 100)	99,7 % (98,5 – 100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100 % (95,9 – 100)	100 % (99,0 – 100)

- a. Rezultat dvosmjernog sekvenciranja DNK za ovaj lažno pozitivan izolat IMP-a pokazao je 92,95 % homolognosti sekvence, što je bilo nešto ispod graničnih vrijednosti od 95 %. Nije provedeno testiranje nepodudaranja.
- b. Rezultati testiranja nepodudaranja: 1 od 1 bio je VIM pozitivan.
- c. Taj lažno pozitivan izolat vjerojatno je posljedica križne kontaminacije KPC-a na razini pripreme uzorka. Testiranje nepodudaranja nije rezultiralo podudaranjem sekvence s ciljem KPC-a. Testiranje nepodudaranja proizvelo je podudaranje sekvence koje odgovara cilju VIM-a, stoga je taj izolat klasificiran kao TP u „kombiniranoj” procjeni prikazanoj u prethodnoj tablici 8.

Prilikom testiranja na izolatima iz MacConkeyjevog agara test Xpert Carba-R pokazao je ukupnu osjetljivost i specifičnost od 100 % (interval pouzdanosti od 95 %: 99,0 – 100) i 97,1 % (interval pouzdanosti od 95 %: 91,8 – 99,0), u odnosu na referentno sekvenciranje izvedeno iz izolata krvnog agara (tablici 10). Kombinirani rezultat definiran je kao pozitivan za test Xpert Carba-R ako je bilo koji od ciljeva bio pozitivan, a negativan za test Xpert Carba-R ako su svi ciljevi bili negativni.

Tablica 10. Xpert Carba-R (MacConkeyjev agar) u odnosu na referentno sekvenciranje (izolati uzgojeni na krvnom agaru) – kombinirano

Cilj	N	TP	FP	TN	FN	Osjetljivost (interval pouzdanosti od 95 %)	Specifičnost (interval pouzdanosti od 95 %)
Kombinirano	467	364 ^a	3	100	0	100 % (99,0 – 100)	97,1 % (91,8 – 99,0)

a. Kombinirani rezultati predstavljaju rezultate prema izolatu. Za neke izolate primijećeni su rezultati s više ciljeva.

Prilikom testiranja na izolatima iz MacConkeyjevog agara, test Xpert Carba-R pokazao je osjetljivost i specifičnost od > 99 % za svaki od pet ciljeva testa, u odnosu na referentno sekvenciranje izvedeno iz izolata iz krvnog agara (tablica 11).

Tablica 11. Xpert Carba-R (MacConkeyjev agar) u odnosu na referentno sekvenciranje (izolati uzgojeni na krvnom agaru) – prema cilju

Cilj	N	TP	FP	TN	FN	Osjetljivost (interval pouzdanosti od 95 %)	Specifičnost (interval pouzdanosti od 95 %)
IMP	467	40	1 ^a	426	0	100 % (91,2 – 100)	99,8 % (98,7 – 100)
VIM	467	82	1 ^b	384	0	100 % (95,5 – 100)	99,7 % (98,5 – 100)
NDM	467	78	1 ^c	388	0	100 % (95,3 – 100)	99,7 % (98,6 – 100)
KPC	467	84	0	383	0	100 % (95,6 – 100)	100 % (99,0 – 100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100 % (95,9 – 100)	100 % (99,0 – 100)

- a. Rezultat dvosmjernog sekvenciranja DNK za ovaj lažno pozitivan izolat IMP-a pokazao je 92,95 % homolognosti sekvenci, što je bilo nešto ispod graničnih vrijednosti od 95 %. Nije provedeno testiranje nepodudaranja.
- b. Rezultati testiranja nepodudaranja: 1 od 1 bio je VIM pozitivan.
- c. Lokacija kliničkog ispitivanja zabilježila je da je interna karakterizacija ovog lažno pozitivnog izolata prije testiranja u ispitivanju dovela do pozitivnog cilja gena NDM. Testiranje nepodudaranja nije rezultiralo podudaranjem sekvence za bilo koji od 5 ciljnih gena.

Provođenje testa Xpert Carba-R prema specifičnoj skupini organizama prikazano je u tablici 12 za medij krvnog agara i MacConkeyjevog agara. Ukupni rezultat definiran je kao pozitivan za test Xpert Carba-R ako je bilo koji od ciljeva bio pozitivan, a negativan za test Xpert Carba-R ako su svi ciljevi bili negativni.

Tablica 12. Xpert Carba-R u odnosu na referentno sekvenciranje

Medij	Organizmi	Cilj	N	TP	FP	TN	FN	Osjetljivost (interval pouzdanosti od 95 %)	Specifičnost (interval pouzdanosti od 95 %)
Krvni agar	<i>Enterobacteriaceae</i>	IMP	343	4	0	339	0	100 % (51,0 – 100)	100 % (98,9 – 100)
		VIM	343	51	1	291	0	100 % (93,0 – 100)	99,7 % (98,1 – 99,9)
		NDM	343	73	0	270	0	100 % (95,0 – 100)	100 % (98,6 – 100)
		KPC	343	83	1	259	0	100 % (95,6 – 100)	99,6 % (97,9 – 99,9)
		OXA-48	343	89	0	254	0	100 % (95,9 – 100)	100 % (98,5 – 100)
		Ukupno	343	291 ^a	1 ^a	51	0	100 % (98,7 – 100)	98,1 % (89,9 – 99,7)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	80	16	1	63	0	100 % (80,6 – 100)	98,4 % (91,7 – 99,7)
		VIM	80	31	0	49	0	100 % (89,0 – 100)	100 % (92,7 – 100)
		NDM	80	0	0	80	0	NP	100 % (95,4 – 100)
		KPC	80	1	0	79	0	100 % (20,7 – 100)	100 % (95,4 – 100)
		OXA-48	80	0	0	80	0	NP	100 % (95,4 – 100)
		Ukupno	80	48	1	31	0	100 % (92,6 – 100)	96,9 % (84,3 – 99,5)
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP	44	20	0	24	0	100 % (83,9 – 100)	100 % (86,2 – 100)
		VIM	44	0	0	44	0	NP	100 % (92,0 – 100)
		NDM	44	5	0	39	0	100 % (56,6 – 100)	100 % (91,0 – 100)
		KPC	44	0	0	44	0	NP	100 % (92,0 – 100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	NP	100 % (92,0 – 100)
		Ukupno	44	25	0	19	0	100 % (86,7 – 100)	100 % (83,2 – 100)

Tablica 12. Xpert Carba-R u odnosu na referentno sekvenciranje (nastavak)

Medij	Organizmi	Cilj	N	TP	FP	TN	FN	Osjetljivost (interval pouzdanosti od 95 %)	Specifičnost (interval pouzdanosti od 95 %)
Mac- Conkeyjev agar	<i>Enterobacteriaceae</i>	IMP	343	4	0	339	0	100 % (51,0 – 100)	100 % (98,9 – 100)
		VIM	343	51	1	291	0	100 % (93,0 – 100)	99,7 % (98,1 – 99,9)
		NDM	343	73	1	269	0	100 % (95,0 – 100)	99,6 % (97,9 – 99,9)
		KPC	343	83	0	260	0	100 % (95,6 – 100)	100 % (98,5 – 100)
		OXA-48	343	89	0	254	0	100 % (95,9 – 100)	100 % (98,5 – 100)
		Ukupno	343	291 ^a	2	50	0	100 % (98,7 – 100)	96,2 % (87,0 – 98,9)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	80	16	1	63	0	100 % (80,6 – 100)	98,4 % (91,7 – 99,7)
		VIM	80	31	0	49	0	100 % (89,0 – 100)	100 % (92,7 – 100)
		NDM	80	0	0	80	0	NP	100 % (95,4 – 100)
		KPC	80	1	0	79	0	100 % (20,7 – 100)	100 % (95,4 – 100)
		OXA-48	80	0	0	80	0	NP	100 % (95,4 – 100)
		Ukupno	80	48	1	31	0	100 % (92,6 – 100)	96,9 % (84,3 – 99,5)
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP	44	20	0	24	0	100 % (83,9 – 100)	100 % (86,2 – 100)
		VIM	44	0	0	44	0	NP	100 % (92,0 – 100)
		NDM	44	5	0	39	0	100 % (56,6 – 100)	100 % (91,0 – 100)
		KPC	44	0	0	44	0	NP	100 % (92,0 – 100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	NP	100 % (92,0 – 100)
		Ukupno	44	25	0	19	0	100 % (86,7 – 100)	100 % (83,2 – 100)

a. Ukupni rezultati predstavljaju rezultate prema izolatu. Za neke izolate primijećeni su rezultati s više ciljeva.

Rezultati testa Xpert Carba-R prema fenotipu predstavljani su u tablici 13 i tablici 14 u nastavku. Fenotipski rezultati temelje se na identifikaciji organizma i rezultatima osjetljivosti za svaki izolat. Kombinirani rezultat definiran je kao pozitivan za test Xpert Carba-R ako je bilo koji od pet ciljeva testa bio pozitivan, a negativan za test Xpert Carba-R ako je svih pet ciljeva testa bilo negativno. Neosjetljivi fenotip znači da je izolat bio srednje osjetljiv ili otporan na barem jedan karbapenem. Osjetljivi fenotip znači da je izolat bio osjetljiv na imipenem, meropenem i ertapenem.

Tablica 13. Xpert Carba-R (krvni agar) u odnosu na fenotip — kombinirano

		Fenotipski rezultati		
Xpert Carba-R		Nisu osjetljivi	Osjetljivi	Ukupno
	Otkriven gen	356	10	366
	Gen nije otkriven	95	6	101
	Ukupno	451	16	467

Tablica 14. Xpert Carba-R (MacConkeyjev agar) u odnosu na fenotip — kombinirano

		Fenotipski rezultati		
Xpert Carba-R		Nisu osjetljivi	Osjetljivi	Ukupno
	Otkriven gen	357	10 ^a	367
	Gen nije otkriven	94 ^b	6	100
	Ukupno	451	16	467

- 10 izolata koji su fenotipski osjetljivi na karbapenem, no koji su na testu Xpert Carba-R pozitivni na karbapenem mogu sadržavati mutacije koje inaktiviraju ili smanjuju regulaciju ekspresije gena otpornosti na karbapenem koje otkriva test Xpert Carba-R.
- 94 izolata koji fenotipski nisu osjetljivi na karbapenem, no koji su na testu Xpert Carba-R negativni na karbapenem mogu sadržavati druge mehanizme otpornosti na karbapenem, kao što su beta-laktamaze AmpC ili beta-laktamaze proširenog spektra u kombinaciji s mutacijama porina, ili potencijalno druge gene otpornosti na karbapenem koje ne otkriva test Xpert Carba-R.

Od provedenih 934 testa (467 izolata x 2 vrste agara) jedan je imao prvotni rezultat **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** (0,10 %, interval pouzdanosti od 95 %, 0,00 – 0,58). Za izolat su dobiveni valjani rezultati pri ponovljenom testiranju. Ukupna važeća stopa izvješćivanja testa bila je 100 % (934/934).

18 Analitička učinkovitost

18.1 Analitička osjetljivost (granica otkrivanja) – rektalni i perirektalni brisovi

Analitička osjetljivost ili granica otkrivanja (LoD) testa Xpert Carba-R procijenjena je s pomoću organizama koji proizvode karbapenemaze koji su uzgojeni u skupnoj negativnoj matrici ljudskog rektalnog brisa i skupnoj negativnoj matrici ljudskog perirektalnog brisa. Granica otkrivanja utvrđena je za dvije bakterije koje proizvode karbapenemaze za svaki analit gena, tj., gene koji kodiraju KPC, NDM, VIM, OXA-48 i IMP. Bakterije su titrirane prema brojevima podloge i dodane na čiste brisove. Brisovi su stavljeni u skupnu negativnu matricu rektalnog brisa ili skupnu negativnu matricu perirektalnog brisa te je procijenjeno 20 kopija u najmanje pet različitih koncentracija tijekom četiri dana. Granica otkrivanja za svaki od deset organizama koji proizvode karbapenemaze procijenjena je analizom probita. Granica otkrivanja definirana je kao najniža koncentracija ciljnih stanica (CFU/bris) koja se može razlikovati s obzirom na reproduciranje rezultata od negativnih uzoraka s pouzdanošću od 95 %. Ispitivanje je provedeno s dvije različite serije reagensa Xpert Carba-R, a procijenjena granica otkrivanja veća je od dva razmatranja. Procijenjene granice otkrivanja provjerene su pripremom i testiranjem 10 kopija iz dva neovisna razrjeđenja svake bakterije na svakoj procijenjenoj granici otkrivanja.

Procijenjena granica otkrivanja za svaki par organizma koji proizvode karbapenemaze u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa prikazana je u tablici 15 i tablici 16.

Tablica 15. Procjene granice otkrivanja i verifikacija za organizme koji imaju gene karbapenemaze s pomoću testa Xpert Carba-R u matrici rektalnog brisa

Ciljni gen i organizam	Procjene granice otkrivanja (Probit) za CFU/bris		CFU/bris s granicom otkrivanja	Procijenjene granice otkrivanja u reagensu za uzorak (CFU/ml)	Verifikacija (pozitivni rezultati / 20)
	Seriya 1	Seriya 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	174	141	174	35	20/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	303	306	306	61	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	247	305	305	61	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	815	468	815	163	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	117	251	251	50	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	74	57	74	15	19/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	373	292	373	75	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	779	537	779	156	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	154	109	154	31	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	104	99	104	21	20/20

Tablica 16. Procjene granice otkrivanja i verifikacija za organizme koji imaju gene karbapenemaze s pomoću testa Xpert Carba-R u matrici perirektalnog brisa

Ciljni gen i organizam	Procjene granice otkrivanja (Probit) za CFU/bris		CFU/bris s granicom otkrivanja	Procijenjene granice otkrivanja u reagensu za uzorak (CFU/ml)	Verifikacija (pozitivni rezultati / 20)
	Seriya 1	Seriya 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	90	118	118	24	19/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	269	635	635	127	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	901	514	901	180	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	446	403	446	89	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	133	113	133	27	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	56	54	56	11	20/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	358	292	358	72	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	1259	1303	1303	261	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	223	166	223	45	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	126	137	137	27	20/20

18.2 Analitička reaktivnost (uključivost)**18.2.1 Ispitivanje matrice rektalnog i perirektalnog brisa**

Analitička reaktivnost testa Xpert Carba-R na matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa procijenjena je testiranjem 72 uzorka. Ova se pretraga sastojala od 11 dobro karakteriziranih bakterijskih sojeva *bla*_{KPC} (KPC), 11 *bla*_{VIM} (VIM), 8 *bla*_{OXA-48} (OXA-48), 5 *bla*_{NDM/bla}_{OXA-181} (NDM/OXA-181), 6 *bla*_{OXA-181} (OXA-181), 17 *bla*_{IMP} (IMP), i jedan *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (KPC/VIM). Sojevi testirani u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa i njihove koncentracije za testiranje predstavljeni su u tablici 17.

Za testiranje u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa organizmi su uzgojeni u skupnoj negativnoj matrici rektalnog brisa ili skupnoj negativnoj matrici perirektalnog brisa. Svi bakterijski sojevi testirani su tri puta za obje matrice brisa. Ciljni geni testa Xpert Carba-R otkriveni su u 69 od 72 bakterijska soja koji proizvode karbapenemaze iako je IMP-4 otkriven samo pri upotrebi veće koncentracije (tablica 17). Sekvence ciljnog DNK testa Xpert Carba-R nisu otkrivene u tri bakterijska soja kako je prikazano u tablici 17. U jednom od tri bakterijska soja gen IMP-13 nije otkriven testom iako je predviđeno da će se otkriti *in silico* analizom. U dva od ostala tri bakterijska soja nije bilo predviđeno da će se geni IMP-7 i IMP-14 otkriti *in silico* analizom te nisu otkriveni u testu. Pogledajte odjeljak 15, Ograničenja u uputama.

Tablica 17. Analitička reaktivnost testa Xpert Carba-R u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa

ID soja	Organizam	Markeri otpornosti s informacijama o varijanti	Koncentracija testirana u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa (CFU/ml)
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	153
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4	50
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	130
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2	250
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2	250
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	330
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	100
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2	300
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2	160
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2	147
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM	80
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC	70
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10	500
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	130
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	70
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	250
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM	200
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	2000
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2	500
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2	250
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4	250

Tablica 17. Analitička reaktivnost testa Xpert Carba-R u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa (nastavak)

ID soja	Organizam	Markeri otpornosti s informacijama o varijanti	Koncentracija testirana u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa (CFU/ml)
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19	250
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM	500
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM	80
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1	130
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1	70
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1	30
CAN	<i>Salmonella spp.</i>	NDM-1	70
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2	40
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4	30
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5	30
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM	30
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM	50
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1	70
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	40
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	60
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	120
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	80
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	120
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	100
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	280
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
CDC0051	<i>Klebsiella ozaenae</i> ^a	OXA-181	250
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	10
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181	10
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	60
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	15

Tablica 17. Analitička reaktivnost testa Xpert Carba-R u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa (nastavak)

ID soja	Organizam	Markeri otpornosti s informacijama o varijanti	Koncentracija testirana u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa (CFU/ml)
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	20
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1	250
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1720
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1	250
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1000
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	500
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	500
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	250
3994	<i>Pseudomonas spp.</i>	IMP-10	250
CDC0161	<i>Enterobacter aerogenes</i> ^a	IMP-4	5,00E+04
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2	60
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11	2000
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6	80
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 ^{b,c}	1,00E+06
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^c	1,00E+06
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{b,c}	1,00E+06

- a. Ti organizmi nisu testirani kao bakterijski izolati.
 b. Geni IMP-7 i IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) nisu otkriveni testom i nije bilo predviđeno da će se otkriti *in silico* analizom (pogledajte odjeljak 15, Ograničenja).
 c. Gen IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*): iako je predviđeno da će se otkriti *in silico* analizom, IMP-13 gen nije otkriven testom (vidjeti odjeljak 15, Ograničenja).

18.2.2 Ispitivanje bakterijskih izolata

Analiitička osjetljivost testa Xpert Carba-R na bakterijskim izolatima također je procijenjena testiranjem pretrage od 71 uzorka koja se sastojala od 11 dobro karakteriziranih bakterijskih sojeva *bla*_{KPC} (KPC), 13 *bla*_{NDM} (NDM), 11 *bla*_{VIM} (VIM), 8 *bla*_{OXA-48} (OXA-48), 5 *bla*_{NDM/bla}_{OXA-181} (NDM/OXA-181), 5 *bla*_{OXA-181} (OXA-181), 17 *bla*_{IMP} (IMP), i jedan *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (KPC/VIM). Sojevi testirani kao bakterijski izolati prikazani su u tablici 18.

Za testiranje bakterijskih izolata organizmi su testirani u kopijama od četiri pripravljenim razrjeđivanjem 10 µl suspenzije stanica od 0,5 McFarlanda za svaki bakterijski soj u 5 ml reagensa za uzorak. Testiranje je provedeno uz pomoć krvnog agara i MacConkeyjevih podloga. Ciljni geni testa Xpert Carba-R nisu otkrivene u tri bakterijska soja kako je prikazano u fusnoti u tablici 18. U jednom od tri bakterijska soja gen IMP-13 nije otkriven testom iako je predviđeno da će se otkriti *in silico* analizom. U dva od tri bakterijska soja geni IMP-7 i IMP-14 nisu otkriveni testom te nije bilo predviđeno da će se otkriti *in silico* analizom. Pogledajte odjeljak Ograničenja u uputama.

Tablica 18. Analiitička reaktivnost testa Xpert Carba-R – bakterijski izolati

ID soja	Organizam	Markeri otpornosti s informacijama o varijanti
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1

Tablica 18. Analitička reaktivnost testa Xpert Carba-R – bakterijski izolati (nastavak)

ID soja	Organizam	Markeri otpornosti s informacijama o varijanti
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1
CAN	<i>Salmonella spp.</i>	NDM-1
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1, OXA-181
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1
3994	<i>Pseudomonas spp.</i>	IMP-10
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2

Tablica 18. Analitička reaktivnost testa Xpert Carba-R – bakterijski izolati (nastavak)

ID soja	Organizam	Markeri otpornosti s informacijama o varijanti
G029	<i>Salmonella spp</i>	IMP-4
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 ^{a,b}
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^a
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{a,b}

- a. Nije otkriveno testom Xpert Carba-R (pogledajte odjeljak 15, Ograničenja).
 b. Geni IMP-7 i IMP-14 nisu otkriveni testom i nije bilo predviđeno da će se otkriti *in silico* analizom (pogledajte odjeljak 15, Ograničenja)

Otkrivene varijante i predviđanja za otkrivanje drugih podvrsta svakog gena otpornosti zasnovana na *in silico* analizi prikazani su u tablici 19 (koja predstavlja rezultate od matrice rektalnog brisa i ispitivanja bakterijskih izolata).

Tablica 19. Sažetak varijanti otkrivenih mokrim testiranjem ili za koje se predviđa da će se otkriti na temelju *in silico* analize

Marker (ili tradicionalna podgrupa)	Mokro testiranje			Nije testirano, ali se predviđa da će se otkriti na temelju <i>in silico</i> analize
	Br. uzoraka	Otkrivene vrste	Neotkrivene vrste	
KPC	12	KPC-2,3,4	--	KPC-5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
NDM	18	NDM-1,2,4,5	--	NDM-3, 6, 7, 8, 9
VIM	12	VIM-1,2,4,10,19	--	VIM-5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38
OXA-48	18	OXA-48, 181 (varijanta OXA-48)	--	OXA-162, 163, 204, 232, 244, 245, 247
IMP	17	IMP-1 (9 sojeva), IMP-2, 4, 6, 10, 11	IMP-7 ^a , 13 ^b , 14 ^a	IMP-3, 8, 9, 13 ^b , 19, 20, 21, 22, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 33, 37, 40, 42

- a. Geni IMP-7 i IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) nisu otkriveni testom i nije bilo predviđeno da će se otkriti *in silico* analizom (pogledajte odjeljak 15, Ograničenja).
 b. Testiran je gen IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*): iako je predviđeno da će se otkriti *in silico* analizom, IMP-13 gen nije otkriven testom (vidjeti odjeljak 15, Ograničenja).

18.3 Analitička specifičnost (unakrsna reaktivnost)

Analitička specifičnost testa Xpert Carba-R procijenjena je za bakterijske izolate, organizme uzgojene u matrici rektalnog brisa i organizme uzgojene u matrici perirektalnog brisa. Za sve tri vrste uzoraka u ispitivanju su procijenjena 62 dobro karakterizirana bakterijska soja osjetljiva na karbapenem ili neosjetljiva na karbapenem zbog drugih gena ili mehanizama osim ciljnih gena testa Xpert Carba-R (tablica 20 i tablica 21) i 24 komenzalna bakterijska soja i drugi enterički mikroorganizmi (tablica 22). Ljudske stanice također su testirane u matricama rektalnog brisa i perirektalnog brisa (tablica 23). Mehanizmi otpornosti utvrđeni su pojedinačnim testovima PCR-a, analizom sekvence DNK ili matricom Check-Points verzije CT102.

Za uzorke matrice rektalnog brisa i perirektalnog brisa testirana su 62 soja u koncentraciji od $> 1 \times 10^6$ CFU/ml, s izuzetkom soja *Peptostreptococcus anaerobius* koji je testiran u koncentraciji od 5×10^5 CFU/ml. Virusi su testirani na $> 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml ili više od $2,5 \times 10^7$ kopija RNK-a/ml. Stanična linija mokraćnog mjehura (DNK ljudskog genoma) testirana je na 1×10^5 stanica/ml. Organizmi su razrijeđeni u skupnoj negativnoj matrici rektalnog brisa ili u skupnoj negativnoj matrici perirektalnog brisa te su testirani tri puta. Testom Xpert Carba-R nije otkriven nijedan od 94 potencijalno unakrsno reaktivnih organizama i nukleinskih kiselina.

Za bakterijske izolate organizmi su uzgajani aerobno na podlogama krvnog agara i MacConkeyjevog agara. Dvije suspenzije stanica ekvivalentne suspenziji stanica od 0,5 McFarlanda pripremljene su iz izoliranih kolonija na svakoj vrsti podloge agara. Svaki je organizam testiran ukupno četiri puta (po dvije kopije iz svake dvije suspenzije stanica od 0,5 McFarlanda po organizmu) sa svake podloge.

Test Xpert Carba-R nije unakrsno reagirao ni na jedan testirani organizam (tablica 20, tablica 21, tablica 22 i tablica 23). Analitička specifičnost testa bila je 100 %.

Tablica 20. Broj organizama osjetljivih i neosjetljivih na karbapenem za svaki antibiotik

	Ertapenem	Imipenem	Meropenem
Osjetljivi	19	30	24
Srednje osjetljivi	0	8	4
Otporni	43	24	34

Tablica 21. Pretraga za unakrsnu reaktivnost

Organizam	ID soja	Potvrđeni mehanizmi otpornosti	Osjetljivost na karbapenem (S//R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 13441	CTX-M (-1, -kao vrsta 15); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13465	CTX-M (25)	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	810	Nedostatak gena OmpC/OmpF; TEM	R	R	R
<i>Citrobacter freundii</i>	1698	TEM (WT+164S)	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	5557	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn5	CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn12	TEM; SHV; CTX-M	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco1	TEM; CTX-M-2	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco2	CTX-M (2); TEM; OXA-2	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	cor1	CTX-M (2); TEM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	hpp21	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Morganella morganii</i>	fer29	CTX-M (2); TEM	S	R	S
<i>Proteus mirabilis</i>	gut25	CTX-M (2); TEM	S	R	S
<i>Salmonella spp.</i>	3209	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Shigella flexnerii</i>	3331	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_3	AmpC; CTX-M-15; TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32189	SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32443	CTX-M (1, -kao vrsta 15); SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32598	CTX-M (-1, -kao vrsta 15); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33560	CTX-M (15); SHV-11; TEM-1	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33603	SHV-2	R	I	R

Tablica 21. Pretraga za unakrsnu reaktivnost (nastavak)

Organizam	ID soja	Potvrđeni mehanizmi otpornosti	Osjetljivost na karbapenem (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33617	SHV-27	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33643	SHV (-5, -55); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34430	SHV; TEM; CTX-M-15	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34680	TEM; CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34732	CTX-M (15); SHV; TEM	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_174	GX-/Culture+; SHV; TEM	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 645	SHV (WT+238S+240K)	R	S	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 669	SHV (WT+238S+240K)	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	C3015	AmpC (CMY II); TEM	R	R	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	RI_100	AmpC (DHA); SHV	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B4A	SHV (WT + 238S +240K)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B13A	SHV (WT + 238S +240K)	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	RI_474	AmpC (ACT/MIR)	R	I	I
<i>Enterobacter amnigenus</i>	B71	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DD82A	SHV (WT + 238S + 240K)	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B100	CTX-M (-1, kao vrsta -15); SHV (WT+238S); TEM	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	135B	TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B157	SHV; TEM	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	T2914280	CTX-M (-1, -15); TEM	R	S	R
<i>Providencia stuartii</i>	DD188	TEM (104K + 164S)	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	DD189	AmpC (ACT/MIR)	R	S	S
<i>Escherichia coli</i>	B198B	CTX-M (-1, kao vrsta -15); TEM	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-1	CTX-M (-1, kao vrsta -15); SHV	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-2	CTX-M (-1, kao vrsta -15); SHV	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	ENC-THAI14	VEB-1, TEM	S	S	S
<i>Escherichia coli</i>	CB154006	CTX-M (9); TEM	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	S35766	AmpC (ACT/MIR)	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	X1856910	AmpC (ACT/MIR); TEM	R	I	I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3758164	CTX-M (-1, kao -15); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	X2135758	CTX-M (-1, kao -15); SHV	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3809535	CTX-M (-1, kao -15); SHV	R	R	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CDC0064	SPM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0099	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0121	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0122	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0123	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0124	SME	R	R	R

Tablica 21. Pretraga za unakrsnu reaktivnost (nastavak)

Organizam	ID soja	Potvrđeni mehanizmi otpornosti	Osjetljivost na karbapenem (S//R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0130	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0131	SME	R	R	R
Skupina bakterija <i>Enterobacter cloacae</i>	CDC0132	IMI	R	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i> kompleks	CDC0164	IMI	R	R	R

a. S//R = osjetljivi / srednje osjetljivi / otporni, ETP = Ertapenem, IMP = Imipenem, MEM = Meropenem

Tablica 22. Pretraga za unakrsnu reaktivnost (komezalni i drugi enterički mikroorganizmi)

ID soja	Organizam	Testirana koncentracija (u CFU/ml ako nije drugačije navedeno)
ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>	2,67E+06
ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	3,15E+06
ATCC 700603	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,20E+06
ATCC 35218	<i>Escherichia coli</i>	2,47E+06
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,53E+06
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,17E+06
ATCC 9689	<i>Clostridium difficile</i> ^a	1,80E+07
ATCC 700621	<i>Enterobacter cloacae</i>	8,95E+06
ATCC 9756	<i>Enterococcus faecium</i>	6,54E+06
ATCC 13182	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4,76E+06
ATCC BAA-747	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2,27E+06
ATCC 33128	<i>Citrobacter freundii</i>	2,01E+06
ATCC 49948	<i>Morganella morganii</i>	8,19E+06
ATCC 51331	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3,15E+06
ATCC 27028	<i>Citrobacter koseri</i>	5,05E+06
ATCC 49809	<i>Providencia stuartii</i>	3,01E+06
ATCC 49037	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	5,00E+05
CCUG 29780 / ATCC 12401	<i>Streptococcus agalactiae</i>	5,21E+06
ATCC 15703	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ^a	1,10E+08
ATCC 51697	<i>Enterobacter aerogenes</i>	3,19E+06
ATCC 43071	<i>Proteus mirabilis</i>	1,78E+06
CCUG 34787	<i>Acinetobacter spp.</i>	2,40E+06
CCUG 418	<i>Citrobacter freundii</i>	2,95E+06
CCUG 33629	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	4,48E+06
CCUG 17874	<i>Helicobacter pylori</i>	1,61E+06

Tablica 22. Pretraga za unakrsnu reaktivnost (komezalni i drugi enterički mikroorganizmi) (nastavak)

ID soja	Organizam	Testirana koncentracija (u CFU/ml ako nije drugačije navedeno)
CCUG 33548	<i>Listeria monocytogenes</i>	4,77E+06
CCUG 6325	<i>Providencia alcalifaciens</i>	4,91E+06
CCUG 43594 / ATCC 33560	<i>Campylobacter jejuni</i> ^a	3,27E+06
MRVP/ZeptoMetrix	Adenovirus vrste B 7A/NY ^a	1,40E+05 TCID ₅₀ /ml
MRVP/ZeptoMetrix	Enterovirus vrste 71/NY ^a	4,40E+05 TCID ₅₀ /ml
Klinički uzorak – Cepheid	Norovirus GII ^a	2,5 x 10 ⁷ kopija RNK / ml

a. Ti su organizmi testirani u matrici rektalnog brisa i perirektalnog brisa.

Tablica 23. Stanična linija koja predstavlja ljudski genomski DNK

Naziv organizma	Izvor
Karcinom stanica mokraćnog mjehura (hgDNA)	ATCC HTB-4

18.4 Konkurentne interferencije

Provedeno je ispitivanje konkurentne interferencije kako bi se testiralo hoće li visoki titar jednog ili više organizama koji proizvode karbapenemaze ometati otkrivanje drugog ciljanog organizma koji proizvodi karbapenemaze i koji je prisutan u niskom titru. Uzorci visokog titra pripremljeni su u koncentraciji od 5 x 10⁶ CFU/bris, a ciljevi niskog titra pripremljeni su na približno 2 x granice otkrivanja za odgovarajući soj u matrici rektalnog brisa ili matrici perirektalnog brisa. U ovom ispitivanju upotrijebljen je jedan bakterijski soj koji proizvodi karbapenemaze za svaki analit gena, tj. gene koji kodiraju KPC, NDM, VIM, OXA-48 i IMP. Svaka vrsta bakterijskih sojeva koja proizvodi karbapenemaze testirana je na niskim titrima u kombinaciji s visokim titrom svake druge jedne ili dvije vrste bakterijskih sojeva bakterija koje proizvode karbapenemaze (tablica 24). Uzorci su testirani u kopijama od osam.

Primijećen je inhibitorski učinak za tri od pet ciljeva (IMP, VIM i OXA-48) kada je niska koncentracija svakog cilja bila prisutna u kombinaciji s visokom koncentracijom jednog ili dva druga cilja za uzorke testirane u matrici rektalnog brisa. Tri cilja (IMP, VIM i OXA-48) testirana su u većoj koncentraciji (4 x granice otkrivanja) u kombinaciji s visokom koncentracijom jednog ili dva druga cilja za uzorke u matrici rektalnog brisa. Nije primijećen inhibitorski učinak za tri cilja (IMP, VIM i OXA-48) na 4x granice otkrivanja u prisutnosti klinički važnih koinfekcija za test Xpert Carba-R.

Primijećen je inhibitorski učinak za dva od pet ciljeva (NDM i IMP) kada je niska koncentracija svakog cilja bila prisutna u kombinaciji s visokom koncentracijom jednog ili dva druga cilja za uzorke testirane u matrici perirektalnog brisa. Dva cilja (NDM i IMP) testirana su u većoj koncentraciji (4 x granice otkrivanja) u kombinaciji s visokom koncentracijom jednog ili dva druga cilja za uzorke u matrici perirektalnog brisa. Nije primijećen inhibitorski učinak za dva cilja (NDM i IMP) na 4x granice otkrivanja u prisutnosti klinički važnih koinfekcija za test Xpert Carba-R.

Konkurentski inhibitorski učinak na ciljeve Carba-R (NDM, IMP, VIM i OXA-48) obrađen je u odjeljku 15, Ograničenja u uputama.

Tablica 24. Kombinacije bakterija koje proizvode karbapenemaze testirane testom Xpert Carba-R

Kombinacija
Visoki broj KPC-a / Visoki broj NDM-a / Niski broj VIM-a
Visoki broj KPC-a / Visoki broj NDM-a / Niski broj OXA-a
Visoki broj KPC-a / Visoki broj NDM-a / Niski broj IMP-a
Visoki broj VIM-a / Visoki broj OXA-a / Niski broj KPC-a
Visoki broj VIM-a / Visoki broj OXA-a / Niski broj NDM-a
Visoki broj VIM-a / Visoki broj OXA-a / Niski broj IMP-a
Visoki broj IMP-a / Niski broj KPC-a

Tablica 24. Kombinacije bakterija koje proizvode karbapenemaze testirane testom Xpert Carba-R (nastavak)

Kombinacija
Visoki broj IMP-a / Niski broj NDM-a
Visoki broj IMP-a / Niski broj VIM-a
Visoki broj IMP-a / Niski broj OXA-a
Visoki broj OXA-a / Niski broj VIM-a
Visoki broj VIM-a / Niski broj OXA-a
Visoki broj KPC-a / Niski broj NDM-a
Negativno

18.5 Potencijalno interferirajuće tvari

Učink testu Xpert Carba-R procijenjen je s 24 potencijalno interferirajuće tvari koje mogu biti prisutne u uzorcima rektalnog brisa i perirektalnog brisa. Otopine potencijalno interferirajućih tvari (IS) pripremljene su i testirane u koncentracijama navedenim u tablici 25. U ovo su ispitivanje uključeni pozitivni i negativni uzorci. Pozitivni uzorci sastojali su se od mješavine pet organizama koji proizvode karbapenemaze koji sadrže sekvence gena KPC, NDM, VIM, IMP-1 i OXA-48 uzgojenih u skupnoj negativnoj matrici rektalnog brisa ili skupnoj negativnoj matrici perirektalnog brisa na približno 3 x granice otkrivanja. Testirano je osam pozitivnih uzoraka kopija po tvari. Negativni uzorci sastojali su se od skupne negativne matrice rektalnog brisa ili skupne negativne matrice perirektalnog brisa koji nije uzgajan s organizmima koji proizvode karbapenemaze. Testirano je osam negativnih uzoraka kopija po tvari kako bi se utvrdio učinak na performanse kontrole obrade uzoraka (SPC). Kontrole su se sastojale od pozitivnih i negativnih uzoraka bez dodavanja interferirajućih tvari. Učinak svake potencijalno interferirajuće tvari na pozitivne i negativne kopije procijenjen je usporedbom vrijednosti ciljanog praga ciklusa (Ct) generiranih u prisutnosti tvari i vrijednosti Ct iz kontrola bez te tvari. Pozitivni i negativni uzorci kopija za 22 potencijalno interferirajuće tvari ispravno su identificirani s pomoću testa Xpert Carba-R. Interferencija s testom Xpert Carba-R može se primijetiti za barijev sulfat pri > 0,1 % w/v i Pepto-Bismol pri > 0,01 % w/v u testovima s uzorcima matrice rektalnog brisa. Pogledajte odjeljak 15, Ograničenja u uputama. Uzorci matrice rektalnog brisa, pozitivni na mješavinu pet organizama koji proizvode karbapenemaze koji sadrže sekvence gena KPC, NDM, VIM, IMP-1 i OXA-48 koji su testirani na fekalnoj masti od 0,25 % w/v, nisu dali lažne negativne rezultate, međutim, primijećene su granične vrijednosti odgođenog ciklusa za cilj VIM-a. Ta potencijalna interferencija zbog prisutnosti 0,25 % w/v fekalne masti navodi se u odjeljku Ograničenja u uputama. Interferencija s testom Xpert Carba-R može se primijetiti za barijev sulfat pri > 0,1 % w/v i Pepto-Bismol pri > 0,025 % w/v u testovima s uzorcima matrice perirektalnog brisa. Pogledajte odjeljak 15, Ograničenja.

Tablica 25. Testirane potencijalno interferirajuće tvari

Tvar/razred	Aktivni sastojak	Testirana koncentracija
Nesteroidni protuupalni lijek	Naproksen	0,25 % w/v
Tvar za snimanje snimke	Barijev sulfat	0,25 % i 0,1 % w/v
Antibiotik (oralni)	Cefaleksin	0,25 % w/v
Antibiotik (oralni)	Ciprofloksacin	0,25 % w/v
Kondom sa spermicidnim lubrikantom	Nonoksinol-9	1 kondom ^a
Kreme / masti / supozitoriji	Hidrokortizon	0,25 % w/v
Laksativ	Senozidi	0,25 % w/v
Lipidi	Stearinska kiselina / palmitinska kiselina / kolesterol (fekalne masti)	0,25 % w/v
Lijek protiv proljeva	Loperamid hidroklorid / bizmut subsalicilat (Imodium)	0,25 % w/v
Lijek protiv proljeva	Loperamid hidroklorid / bizmut subsalicilat (Kaopectate)	0,25 % w/v
Topikalna krema	Lubrikant K-Y Jelly	0,25 % w/v

Tablica 25. Testirane potencijalno interferirajuće tvari (nastavak)

Tvar/razred	Aktivni sastojak	Testirana koncentracija
Antacidi	Kalcijev karbonat / aluminijev hidroksid / magnezijev hidroksid / simetikon (magnezijev mlijeko)	0,25 % w/v
Eneme	Mineralno ulje	0,25 % w/v
Antibiotik (topikalan)	Polimiksin B / neomicin / bacitracin (Neosporin)	0,25 % w/v
Antigljiivični / vaginalni protiv svraba	Nistatin	0,25 % w/v
Antacid	Famotidin (Pepcid)	0,25 % w/v
Lijek protiv proljeva	Loperamid hidroklorid / bizmut subsalicilat (Pepto-Bismol)	0,25 %, 0,1 %, 0,05 %, 0,025 %, 0,01 % w/v
Topikalna krema	Vazelin	0,25 % w/v
Kreme / masti protiv hemoroida	Fenilefrin (Preparation H)	0,25 % w/v
Sredstvo za smanjenje kiseline; antacid	Omeprazol (Prilosec)	0,25 % w/v
Eneme	Klistir sa slanom otopinom	0,25 % w/v
Antacid	Cimetidin (Tagamet)	0,25 % w/v
Antigljiivični / vaginalni protiv svraba	Benzokain, rezorcinol (Vagisil)	0,25 % w/v
Vlažne maramice	Benzalkonijev klorid, etanol (Wet Ones)	1 komad ^b

a. Jedan je kondom dodan u matricu brisa od 40 ml.

b. Jedan komad (5 inča x 7-1/2 inča) dodan je u matricu brisa od 40 ml.

18.6 Ispitivanje o prenošenju kontaminacije

Provedeno je ispitivanje koje je pokazalo da jednokratni, samostalni ulošci GeneXpert sprječavaju prenošenje kontaminacije u ciklusima s negativnim uzorcima nakon vrlo visokih pozitivnih uzoraka. Ispitivanje se sastojalo od negativnog uzorka obrađenog u istom modulu GeneXpert odmah nakon vrlo visokog pozitivnog uzorka. Visoko pozitivni uzorak sastojao se od inaktiviranih stanica *E. coli* koje sadrže plazmid s umetkom od sintetičkog oligonukleotida sekvenci amplikona iz pet ciljanih gena analita Xpert Carba-R (ciljevi KPC, NDM, VIM, IMP i OXA-48). Pozitivne stanice razrijeđene su u skupnoj negativnoj matrici rektalnog brisa i skupnoj negativnoj matrici perirektalnog brisa do koncentracije od 1×10^6 CFU/ml. Shema testiranja ponovljena je 25 puta u dva modula GeneXpert za ukupno 102 testa (25 visoko pozitivnih uzoraka po modulu i 26 negativnih uzoraka po modulu) za matricu rektalnog brisa i matricu perirektalnog brisa. U svih 50 pozitivnih uzoraka točno su zabilježeni svi ciljevi Xpert Carba-R kao **DETEKTIRANO (DETECTED)**, a u sva 52 negativna uzorka točno su zabilježeni svi ciljevi Xpert Carba-R kao **NIJE DETEKTIRANO (NOT DETECTED)** za svaku testiranu matricu.

19 Reproduciranje rezultata

19.1 Ispitivanje matrice rektalnog i perirektalnog brisa

Reproduciranje rezultata testa Xpert Carba-R procijenjeno je s pomoću dvije pretrage od 11 uzoraka, jedne pripremljene u skupnoj negativnoj matrici rektalnog brisa, a druge pripremljene u skupnoj negativnoj matrici perirektalnog brisa. Dva korisnika u svakom od tri ispitivačke lokacije testirala su po jednu pretragu od 11 uzoraka u kopijama od četiri dnevno tijekom šest dana testiranja (11 uzoraka x 2 kopije x 2 puta/dan x 6 dana x 2 korisnika x 3 lokacije). Na svakoj od 3 ispitivačke lokacije upotrijebljene su tri serije uložaka testa Xpert Carba-R. Test Xpert Carba-R proveden je u skladu s postupkom za test Xpert Carba-R. Rezultati su sažeti u tablici 26.

Tablica 26. Sažetak rezultata o reproduciranju rezultata – postotno slaganje, matrice rektalnog i perirektalnog brisa

Uzorak	Matrica ^a	Lokacija 1			Lokacija 2			Lokacija 3			Ukupno postotno slaganje po uzorku
		Op 1	Op 2	Lokacija	Op 1	Op 2	Lokacija	Op 1	Op 2	Lokacija	
Neg.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Umjereni IMP poz.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Niski IMP poz.	R	91,7 % (22/24)	87,5 % (21/24)	89,5 % (43/48)	83,3 % (20/24)	87,5 % (21/24)	85,4 % (41/48)	87,5 % (21/24)	79,2 % (19/24)	83,3 % (40/48)	86,1 % (124/144)
Umjereni VIM poz.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Niski VIM poz.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Umjereni NDM poz.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Niski NDM poz.	R	91,7 % (22/24)	95,8 % (23/24)	93,8 % (45/48)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,8 % (46/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	95,1 % (137/144)
Umjereni KPC poz.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
KPC Niski poz.	R	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,8 % (46/48)	96,5 % (139/144)
OXA-48 Umjer. poz.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
OXA-48 Niski poz.	R	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	91,7 % (22/24)	100 % (24/24)	95,8 % (46/48)	97,2 % (140/144)
Neg.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
IMP Umjer. poz.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
IMP Niski poz.	PR	95,8 % (23/24)	91,7 % (22/24)	93,8 % (45/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	96,5 % (139/144)
VIM Umjer. poz.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
VIM Niski poz.	PR	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	91,7 % (22/24)	91,7 % (22/24)	91,7 % (44/48)	95,8 % (23/24)	83,3 % (20/24)	89,6 % (43/48)	92,4 % (133/144)
NDM Umjer. poz.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
NDM Niski poz.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	87,5 % (21/24)	100 % (24/24)	93,8 % (45/48)	97,9 % (141/144)
KPC Umjer. poz.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
KPC Niski poz.	PR	91,7 % (22/24)	91,7 % (22/24)	91,7 % (44/48)	91,7 % (22/24)	95,8 % (23/24)	93,8 % (45/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	93,8 % (135/144)
OXA-48 Umjer. poz.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
OXA-48 Niski poz.	PR	87,5 % (21/24)	87,5 % (21/24)	87,5 % (42/48)	100 % (24/24)	95,8 % (23/24)	97,9 % (47/48)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,8 % (46/48)	93,8 % (135/144)

a. R = rektalni, PR = perirektalni

Reproduciranje rezultata testa Xpert Carba-R također je procijenjeno u smislu signala fluorescencije izraženog u vrijednostima Ct za svaki otkriveni cilj. Srednja vrijednost, standardno odstupanje (SD) i koeficijent varijacije (CV) među lokacijama, među grupama, među danima, među korisnicima i unutar testa za svakog člana pretrage predstavljeni su u tablici 27.

Tablica 27. Sažetak podataka o reproduciranju rezultata, matricama rektalnog i perirektalnog brisa

Uzorak	Matrica ^a	Kanal testa (analit)	N ^b	Srednja vrijednost Ct	Među lokacijama		Među serijama		Među danima		Među korisnicima		Unutar testa		Ukupno	
					SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Neg.	R	SPC	144	32,9	0,2	0,5	0,2	0,7	0,0	0,1	0,0	0	0,6	1,8	0,7	2,0
Umjer. poz. IMP	R	IMP	144	34,5	0,0	0,0	0,2	0,5	0	0,0	0,1	0,2	0,7	2,0	0,7	2,1
Niski poz. IMP	R	IMP	140	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,0	0	1,2	3,3	1,2	3,4
Umjer. poz. VIM	R	VIM	144	31,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,6	0,6	1,9
Niski poz. VIM	R	VIM	144	33,8	0,0	0,0	0,6	1,8	0,3	0,9	0,3	1,0	1,4	4,0	1,6	4,6
Umjer. poz. NDM	R	NDM	144	33,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,6	1,7	0,6	1,7
Niski poz. NDM	R	NDM	143	36,2	0,2	0,7	0,0	0,0	0,3	0,7	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,5
Umj. poz. KPC	R	KPC	144	34,2	0,0	0,0	0,3	0,8	0,2	0,6	0,0	0,0	0,4	1,2	0,6	1,6
Niski poz. KPC	R	KPC	141	35,8	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	0,3	0,9	0,7	1,9	0,9	2,6
Umj. poz. OXA-48	R	OXA-48	144	34,3	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,1	0,3	0,5	1,6	0,6	1,7
Niski poz. OXA-48	R	OXA-48	143	36,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,4
Neg.	PR	SPC	144	32,7	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
Umj. poz. IMP	PR	IMP	144	33,7	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,5	1,6
Niski poz. IMP	PR	IMP	142	36,0	0,2	0,5	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2	0,5	0,8	2,1	0,8	2,3
Umjer. poz. VIM	PR	VIM	144	31,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,0	0,1	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5
Niski poz. VIM	PR	VIM	142	35,0	0,0	0,0	0,6	1,6	0,0	0,0	0,6	1,7	1,4	4,1	1,6	4,7
Umj. poz. NDM	PR	NDM	144	33,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
Niski poz. NDM	PR	NDM	143	35,7	0,2	0,5	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,9	2,4	0,9	2,5

Tablica 27. Sažetak podataka o reproduciranju rezultata, matricama rektalnog i perirektalnog brisa (nastavak)

Uzorak	Matrica ^a	Kanal testa (analit)	N ^b	Srednja vrijednost Ct	Među lokacijama		Među serijama		Među danima		Među korisnicima		Unutar testa		Ukupno	
					SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Umj. poz. KPC	PR	KPC	144	34,6	0,0	0,0	0,3	1,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,6	1,7
Niski poz. KPC	PR	KPC	143	36,4	0,0	0,0	0,5	1,3	0,1	0,4	0,0	0,0	0,7	2,0	0,9	2,4
Umj. poz. OXA-48	PR	OXA-48	144	34,4	0,1	0,2	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,6	1,7
Niski poz. OXA-48	PR	OXA-48	144	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,2	0,0	0,0	1,0	2,7	1,1	2,9

a. R = rektalni, PR = perirektalni

b. Rezultati s nenulitim vrijednostima Ct od 144.

19.2 Ispitivanje bakterijskih izolata

Reproduciranje rezultata testa Xpert Carba-R procijenjeno s pomoću pretrage od 13 bakterijskih uzoraka koji su uključivali: dva različita organizma po svakom od pet ciljnih gena otpornosti otkrivenih testom Xpert Carba-R; dva uzorka iz zaliha koja su uključivala dva ciljna gena; i jedan negativni uzorak iz zaliha za svih pet ciljnih gena. Dva korisnika u svakoj od tri ispitivačke lokacije testirala su jednu pretragu od 13 uzoraka u kopijama od četiri dnevno. Svaki uzorak upotrijebljen je za izradu dvije suspenzije ekvivalentne suspenziji od 0,5 McFarlanda od kojih su testirane dvije kopije tijekom šest dana testiranja (13 uzoraka x 2 kopije x 2 puta/dan x 6 dana x 2 korisnika x 3 lokacije). Na svakoj od 3 ispitivačke lokacije upotrijebljene su tri serije uložaka testa Xpert Carba-R. Test Xpert Carba-R proveden je u skladu s postupkom za test Xpert Carba-R. Po završetku testiranja isključeno je 25 ciklusa testova na jednom modulu instrumenta, što je rezultiralo ukupnim brojem od 1847 uzoraka uključenih u analize. Rezultati su sažeti u tablici 28.

Tablica 28. Sažetak rezultata o reproduciranju rezultata – postotno slaganje, bakterijski izolatis

Gen otpornosti (br. uzorka)	Lokacija 1			Lokacija 2			Lokacija 3			Ukupno postotno slaganje po uzorku
	Op 1	Op 2	Lokacija	Op 1	Op 2	Lokacija	Op 1	Op 2	Lokacija	
KPC (1)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
KPC (2)	100 % (23/23)	100 % (22/22)	100 % (45/45)	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	99,3 % (140/141)
VIM (1)	100 % (22/22)	100 % (23/23)	100 % (45/45)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (141/141)
VIM (2)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (46/46)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (142/142)
IMP (1)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (47/47)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (143/143)
IMP (2)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (46/46)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (142/142)
OXA (1)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (46/46)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	98,6 % (140/142)

Tablica 28. Sažetak rezultata o reproduciranju rezultata – postotno slaganje, bakterijski izolatis (nastavak)

Gen otpornosti (br. uzorka)	Lokacija 1			Lokacija 2			Lokacija 3			Ukupno postotno slaganje po uzorku
	Op 1	Op 2	Lokacija	Op 1	Op 2	Lokacija	Op 1	Op 2	Lokacija	
OXA (2)	100 % (23/23)	100 % (22/22)	100 % (45/45)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (141/141)
NDM (1)	100 % (22/22)	100 % (21/21)	100 % (43/43)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (139/139)
NDM (2)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (46/46)	91,7 % (22/24)	100 % (24/24)	95,8 % (46/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	98,6 % (140/142)
OXA,NDM (1)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (47/47)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (143/143)
OXA,NDM (2)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (47/47)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (143/143)
NEG	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)

Reproduciranje rezultata testa Xpert Carba-R također je procijenjeno u smislu signala fluorescencije izraženog u vrijednostima Ct za svaki otkriveni cilj. Srednja vrijednost, standardno odstupanje (SD) i koeficijent varijacije (CV) među lokacijama, među grupama, među danima, među korisnicima i unutar testa za svakog člana pretrage predstavljeni su u tablici 29.

Tablica 29. Sažetak rezultata o reproduciranju rezultata – bakterijski izolati

Gen otpornosti (br. uzorka)	Kanal testa (analit)	N ^a	Među lokacijama		Među serijama		Među danima		Među korisnicima		Unutar testa		Ukupno	
			SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
KPC (1)	KPC	144	1,1	4,4	0	0	0	0	0,6	2,6	0,6	2,6	1,4	5,8
KPC (2)	KPC	143	0,8	3,1	0,1	0,2	0,2	0,9	0,5	2,0	0,8	3,1	1,2	4,9
VIM (1)	VIM	141	1,1	5,1	0	0	0	0	0,5	2,3	0,8	3,7	1,5	6,7
VIM (2)	VIM	142	0,3	1,3	0,2	0,8	0	0	0,8	3,8	0,7	3,1	1,1	5,1
IMP (1)	IMP	143	0,3	1,0	0	0	0,3	1,2	0,6	2,3	0,8	3,1	1,0	4,2
IMP (2)	IMP	142	1,4	6,3	0,1	0,5	0	0	0,6	2,8	0,7	3,2	1,7	7,6
OXA (1)	OXA48	140	0,6	2,6	0	0	0	0	0,7	2,8	0,8	3,5	1,2	5,2
OXA (2)	OXA48	141	1,1	4,9	0,3	1,5	0	0	0,5	2,0	0,7	3,3	1,5	6,4
NDM (1)	NDM	139	1,2	5,3	0	0	0	0	0,6	2,4	0,7	3,1	1,5	6,6
NDM (2)	NDM	140	0,9	4,0	0,3	1,4	0	0	0,8	3,3	0,8	3,3	1,5	6,3
NDM/OXA (1)	NDM	143	1,3	5,4	0,2	0,8	0	0	0,6	2,5	0,7	3,1	1,6	6,8
	OXA48	143	1,2	6,2	0,3	1,4	0	0	0,5	2,4	0,7	3,7	1,5	7,7
NDM/OXA (2)	NDM	143	1,2	5,3	0,2	1,1	0	0	0,5	2,4	0,8	3,5	1,6	6,9
	OXA48	143	1,2	6,0	0,2	1,2	0	0	0,5	2,5	0,7	3,8	1,5	7,6
NEG	SPC	144	0,1	0,3	0,1	0,3	0	0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5

a. Rezultati s nenultim vrijednostima Ct od 144.

20 Literatura

1. Kallen AJ, et al. 2010. Current epidemiology of multidrug-resistant gram-negative bacilli in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 31 Suppl 1: S51–54.
2. Nordmann P, et al. 2012. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: a call for action! *Clin Microbiol Infect.* 18: 411–412.
3. Cornaglia G, et al. 2011. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis.* 11: 381–393.
4. Kitchel B, et al. 2009. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in the United States: Clonal expansion of MLST sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:3365–3370.
5. Schwaber MJ, et al. 2011. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis.* 52: 848–855.
6. Kumarasamy KK, et al. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 10: 597–602.
7. Cuzon G, et al. 2008. Plasmid-encoded carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase OXA-48 in an imipenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain from Belgium. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 3463–3464.
8. Nordmann P, et al. 2011. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* 17: 1791–1798.
9. Grundmann H, et al. 2010. Carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill.* 15:1-13.
10. van Duin D, et al. 2016. Ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam: second-generation β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations. *Clin Infect Dis.* 63(2):234-241.
11. Falcone M, Paterson D. 2016. Spotlight on ceftazidime/avibactam: a new option for MDR gram-negative infections. *J Antimicrob.* 71(10):2713-2722.
12. Navas, M and Jacobs M. 2016. Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* - A review for laboratorians. American Association for Clinical Chemistry (AACC) Clinical Laboratory News.
13. Vasoo S, et al. 2015. In vitro activities of ceftazidime-avibactam, aztreonam-avibactam, and a panel of older and contemporary antimicrobial agents against carbapenemase-producing gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(12:7842-7846).
14. Avycaz package insert. Section 14.2 Microbiology.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
16. Centers for Disease Control and Prevention. Accessed January 20, 2016. Healthcare-associated Infections (HAIs). <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-facilities.html>
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
18. REGULATION (EC) 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 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
19. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
20. CLSI M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA (refer to latest edition).
21. CLSI M07-A10. 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Tenth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
22. CLSI M100-S24. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
23. CLSI M07-A9. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Ninth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.

21 Lokacije sjedišta društva Cepheid

Korporativno sjedište

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Sjedinjene Američke Države
Telefon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sjedište u Europi

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francuska
Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Tehnička pomoć

Prije nego što se obratite Tehničkoj podršci tvrtke Cepheid, prikupite sljedeće informacije:

- Broj proizvoda
- Broj serije
- Serijski broj instrumenta
- Poruke o pogrešci (ako postoje)
- Inačica softvera i, ako je primjenjivo, broj servisne oznake računala



















Podaci za kontakt

Sjedinjene Američke Države
Telefon: + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cepheid.com

Francuska
Telefon: + 33 563 825 319
Email: support@cepheideurope.com

Podaci o kontaktu za sve urede tvrtke Cepheid za tehničku podršku dostupni su na našoj internetskoj stranici: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tablica simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	<i>In vitro</i> dijagnostički medicinski proizvod
	Nije za ponovnu upotrebu
	Ovlašteni predstavnik u Europskoj uniji
	Ovlašteni predstavnik u Švicarskoj
	Uvoznik
	Serijski broj
	Pogledajte upute za upotrebu
	Oprez
	Proizvođač
	Država proizvodnje
	Sadrži dovoljnu količinu za <n> testova
	Kontrola
	Rok trajanja
	Ograničenje temperature
	Biološki rizici
	Upozorenje
	Oznaka CE – sukladnost s europskim propisima



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Phone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe S.A.S.
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francuska
Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301



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



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

