

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

REF GXMRSA/SABC-CE-10

Uputstvo za upotrebu

CE **IVD**

Obaveštenja o zaštitnim znakovima, patentima i autorskom pravu

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

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2019–2023 Cepheid.

Cepheid[®], Cepheid logotip, GeneXpert[®] i Xpert[®] su zaštitni znakovi kompanije Cepheid, registrovani u SAD-u i drugim zemljama.

Svi ostali zaštitni znakovi su vlasništvo njihovih vlasnika.

KUPOVINA OVOG PROIZVODA PRENOSI KUPCU NEPRENOSIVO PRAVO DA GA KORISTI U SKLADU SA OVIM UPUTSTVOM ZA UPOTREBU. NIKAKVA DRUGA PRAVA SE NE PRENOSE IZRIČITO, IMPLIKACIJOM ILI ZABRANOM. ŠTAVIŠE, NIKAKVA PRAVA NA DALJU PRODAJU SE NE DOBIJAJU KUPOVINOM OVOG PROIZVODA.

© 2019–2023 Cepheid.

Pogledajte Odeljak 23 za opis promena.

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

1 Vlasničko ime

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

2 Opšteprihvaćeni ili uobičajeni naziv

Xpert MRSA/SA Blood Culture

3 Predviđena upotreba

Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture test, koji se izvodi na GeneXpert[®] sistemima instrumenata, je kvalitativni *in vitro* dijagnostički test, osmišljen za brzu i simultanu detekciju *Staphylococcus aureus* (SA) i meticilin-rezistentnog *Staphylococcus aureus* (MRSA) kod pacijenata sa pozitivnim kulturama krvi. Test koristi automatizovanu lančanu reakciju polimeraze (PCR) u realnom vremenu u cilju detekcije MRSA/SA DNK. Xpert MRSA/SA Blood Culture test je namenjen kao pomoćno sredstvo u detekciji i identifikaciji MRSA/SA iz bočica sa pozitivnom kulturom krvi. Xpert MRSA/SA Blood Culture test je indikovano za upotrebu zajedno sa drugim laboratorijskim testovima, kao što su kultura, i kliničkim podacima koji su dostupni lekaru, kao pomoć u detekciji MRSA/SA kod pacijenata sa pozitivnim kulturama krvi. Podkulture pozitivnih kultura krvi su neophodne za oporavak mikroorganizama za testiranje osetljivosti i epidemiološku tipizaciju. Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture test nije namenjen za nadzor lečenja MRSA/SA infekcija.

4 Sažetak i objašnjenje

Staphylococcus aureus (SA) je humani patogen koji je uzročnik mnogih bolesti uključujući bakterijemiju, endokarditis, osteomijelitis, toksični šok sindrom, trovanje hranom, karbunkule i čireve. Ranih pedesetih godina prošlog veka, sticanje i širenje beta-laktamskih plazmida osujetili su efikasnost penicilina za lečenje SA infekcija. 1959. godine predstavljen je meticilin, polusintetski penicilin, a nakon toga identifikovani su meticilin-rezistentni SA (MRSA) sojevi. Poznato je da se rezistencija javlja kad SA stekne *mec*genski kompleks koji sadrži *mecA* gen i druge potencijalne varijante *mecA*, kao što je *mecA_{LGA251}*, odnosno *mecC*. Danas u Sjedinjenim Državama, MRSA je odgovoran za približno 25% bolničkih infekcija, dovodeći do značajnog morbiditeta i mortaliteta.

Značajan doprinos mortalitetu prijavljen je za MRSA i meticilin-osetljive SA (MSSA) bakterijemije. Trenutno je standardna metoda za detekciju SA, uključujući MRSA iz bočica za kulturu krvi, *in vitro* kultura. Javni zdravstveni sistem može imati koristi od brze i osetljive metode testiranja na SA, uključujući MRSA.^{1,2,3,4,5,6}

5 Princip postupka

GeneXpert sistemi instrumenata automatizuju i integrišu prečišćavanje uzoraka, amplifikaciju nukleinske kiseline i detekciju ciljanih sekvenci u jednostavnim ili složenim uzorcima pomoću PCR u realnom vremenu analiza. Sistemi se sastoje od instrumenta, računara i unapred instaliranog softvera za obavljanje testova i pregled rezultata. Sistemi zahtevaju upotrebu patrona za jednokratnu upotrebu koje sadrže PCR reagense i koje su domaćini PCR procesa. Kako su patrone samostalne, unakrsna kontaminacija između uzoraka je svedena na minimum. Za pun opis sistema, pogledajte *GeneXpert Dx System Operator Manual* ili *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Xpert MRSA/SA Blood Culture test obuhvata reagens za detekciju MRSA i SA, kao i za obradu kontrole uzorka (SPC) radi kontrole odgovarajuće obrade ciljanih bakterija i kako bi se naznačilo prisustvo inhibitora u PCR reakciji. SPC takođe obezbeđuje da uslovi (temperatura i vreme) PCR reakcije budu odgovarajući za reakciju amplifikacije, kao i da su PCR reagensi funkcionalni. Dodatna unutrašnja kontrola, kontrola provere probe (PCC) potvrđuje rehidraciju reagensa, punjenje PCR epruvete u patroni, integritet probe i stabilnost boje.

Prajmeri i probe u Xpert MRSA/SA Blood Culture testu detektuju vlasničke sekvence za stafilokokni protein A (*spa*), gen za rezistenciju na meticilin (*mecA*) i stafilokokni hromozom kasete *mec* (*SCCmec*) umetnut u SA hromozom na *attB* mestu. Ciljevi se koriste pojedinačno ili u kombinaciji kako bi se identifikovao i diferencirao SA i MRSA.

Za MRSA koji je prisutan u bočici za kulturu krvi u odsustvu bilo koje druge bakterijske vrste, analiza koristi algoritme zasnovane na pravilima, gde se vrednosti praga ciklusa (Ct) tri cilja (*spa*, *mecA* i *SCCmec*) porede, kako bi se odredilo da li se ciljevi isporučuju iz istog MRSA mikroorganizma. MRSA se smatra prisutnim kad: 1) sva tri cilja imaju Ct vrednosti unutar važećeg opsega, a krajnje tačke iznad minimalnog podešavanja, 2) u odsustvu *SCCmec*, kad su ispunjeni uslovi za algoritam zasnovan na pravilima za Ct vrednosti za *mecA* i *spa*, ili 3) u odsustvu *spa*, kad su ispunjeni uslovi za algoritam zasnovan na pravilima za Ct vrednosti za *mecA* i *SCCmec*.

6 Reagensi i instrumenti

6.1 Priloženi materijal

Komplet Xpert MRSA/SA Blood Culture sadrži dovoljno reagenasa za obradu 10 uzoraka pacijenata ili uzoraka za kontrolu kvaliteta. Komplet sadrži sledeće:

Xpert MRSA/SA Blood Culture patrone sa integrisanim reakcionim epruvetama	10
<ul style="list-style-type: none"> Zrno 1, zrno 2 i zrno 3 (osušeno zamrzavanjem) Reagens 1 Reagens 2 (natrijum-hidroksid) 	1 od svake po patroni 3 ml po patroni 3 ml po patroni 10 x 2,0 ml
Xpert MRSA/SA Blood Culture reagens za eluciju (gvanidijum-hidrohlrorid i surfaktanti)	12
Pipete za jednokratni prenos fiksne zapremine (50pl) CD	1 po kompletu
<ul style="list-style-type: none"> Datoteka za definiciju testa (ADF) Uputstva za uvoz ADF-a u GeneXpert softver Uputstvo za upotrebu (uputstvo u pakovanju) 	

Напомена Listovi sa bezbednosnim podacima (SDS) su dostupni na www.cepheid.com ili www.cepheidinternational.com na kartici PODRŠKA (SUPPORT).

Напомена Stabilizator proteina goveđeg serumskog albumina (BSA) u zrnima ovog proizvoda napravljen je i proizveden isključivo od goveđe plazme poreklom iz Sjedinjenih Država. Životinjama nije davan nijedan protein preživara ili drugi proteini životinjskog porekla; životinje su prošle ante- i post-mortem testiranje. Tokom obrade nije bilo mešanja materijala sa drugim životinjskim materijalima.

6.2 Skladištenje i rukovanje

- Skladištite patrone i reagens Xpert MRSA/SA Blood Culture na temperaturi od 2 – 28 °C.
- Nemojte koristiti reagens i patrone kojima je istekao rok trajanja.
- Nemojte otvarati poklopac patrone dok niste spremni za testiranje.

6.3 Materijali koji su potrebni, ali nisu priloženi

- GeneXpert Dx sistem ili GeneXpert Infinity sistem (kataloški broj se razlikuje u zavisnosti od konfiguracije): GeneXpert instrument, računar, bar-kod čitač i priručnik za operatera
 - Za GeneXpert Dx sistem: GeneXpert Dx verzija softvera 5.3 ili novija
 - Za GeneXpert Infinity-80 i Infinity 48s sisteme: Verzija Xpertise softvera 6.8 ili novija.
- Štampač: Ako je štampač neophodan, obratite se tehničkoj podršci kompanije Cepheid da dogovorite kupovinu preporučenog štampača.
- Vorteks mešalica
- Jednokratne, sterilne pipete za prenos (za prenos uzorka u patronu)

6.4 Dostupni materijali koji nisu priloženi

KWIK-STIKs™ kompanije Microbiologics kataloški broj 0158MRSA (SCC*mec* type II) i kataloški broj 0360MSSA (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*) mogu se koristiti kao spoljne pozitivne kontrole, a kataloški broj 0371MSSE (meticilin-osetljivi *Staphylococcus epidermidis*) kao spoljna negativna kontrola.

7 Upozorenja i mere predostrožnosti

- Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- Tretirajte sve biološke uzorke, uključujući i korišćene patrone, kao da mogu da prenesu infektivne agense. Kako često nije moguće znati šta bi moglo biti infektivno, prema svim biološkim uzorcima se treba odnositi u skladu sa standardnim merama predostrožnosti. Smernice za rukovanje uzorcima dostupne su u američkim Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti⁸ i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde.⁸
- Biološke uzorke, sredstva za prenos i iskorišćene patrone treba smatrati sposobnim za prenos infektivnih agenasa i zahtevaju standardne mere predostrožnosti. Pridržavajte se procedura za pravilno odlaganje iskorišćenih patrona i neiskorišćenih reagenasa u vašoj ustanovi. Ovi materijali mogu imati karakteristike hemijski opasnog otpada i zahtevaju posebne nacionalne ili regionalne procedure za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne daju jasne smernice o pravilnom odlaganju, biološke uzorke i iskorišćene patrone treba odlagati prema smernicama WHO (SZO, Svetska zdravstvena organizacija) za rukovanje i odlaganje medicinskog otpada. Sledite uputstva osoblja vaše ustanove za pravilno odlaganje iskorišćenih patrona i neiskorišćenih reagenasa u otpad.⁹
- Pridržavajte se sigurnosnih procedura vaše ustanove za rad sa hemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Xpert MRSA/SA Blood Culture test ne pruža rezultate testiranja na antimikrobnu osetljivost. Potrebno je napraviti dodatne podkulture svih pozitivnih kultura krvi za testiranje osetljivosti.
- U mešovitoj kulturi koja sadrži MRSA/SA i druge mikroorganizme (npr. Gram-negativni bacili, gljivice), rezultati mogu biti lažno negativni ili mogu varirati u zavisnosti od koncentracije prisutne MRSA/SA, posebno ako je koncentracija MRSA/SA blizu granice detekcije (LoD) analize.
- Nemojte zamenjivati reagenase za Xpert MRSA/SA Blood Culture sa drugim reagensima za eluciju.
- Nemojte koristiti patronu koja vam je ispala ili koja je protrešena.
- Nemojte koristiti patronu čija je reakciona epruveta oštećena.
- Nemojte koristiti nijedan reagens koji je postao zamućen ili je promenio boju.
- Nemojte koristiti novu patronu koja je procurela. Tečnost van potrošene patrone može ukazivati na problem.
- Svaka jednokratna patrona Xpert MRSA/SA Blood Culture testa koristi se za obradu jednog testa. Nemojte ponovo koristiti iskorišćene patrone.
- Sledeći medijumi za kulturu krvi mogu se koristiti u Xpert MRSA/SA Blood Culture testu:
 - BACTEC™ PEDS PLUS™/F Medium
 - BACTEC™ Plus Aerobic/F Medium
 - BACTEC™ Plus Anaerobic/F Medium
 - BACTEC™ Standard Anaerobic/F Medium
 - BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F Medium
 - BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F Culture Vials
 - bioMérieux BacT/ALERT® SA standardno aerobno

- bioMérieux BacT/ALERT® SN standardno anaerobno
- VersaTREK™ REDOX™ 1R (aerobno)
- VersaTREK™ REDOX™ 2R (anaerobno)
- Medijum za kulturu krvi koji sadrži aktivni ugalj ne može se koristiti sa Xpert MRSA/SA Blood Culture testom.
- Xpert MRSA/SA Blood Culture test treba koristiti samo za testiranje bočica sa kulturom krvi koje su pozitivne na mikrobnj rast i koje bojenjem po Gramu pokazuju Gram-pozitivne koke u klasterima (GPCC) ili pojedinačne Gram-pozitivne koke (GPC).


8 Prikupljanje, transport i skladištenje uzorka

Напомена

Rezultati kulture krvi su kritični za negu pacijenta. Pridržavajte se utvrđenih smernica vaše laboratorije/ustanove za prijavljivanje pozitivnih rezultata kulture krvi (verbalno, pisano ili elektronski) zdravstvenim radnicima.

- Kad su pozitivne na rast, uklonite bočice sa kulturom krvi iz inkubacije. Bojenje po Gramu mora biti izvedeno na pozitivnoj kulturi krvi nakon standardne laboratorijske procedure.
- Za bočice sa pozitivnom kulturom krvi, koje pokazuju Gram-pozitivne koke u klasterima (GPCC) ili jednu Gram-pozitivnu koku (GPC) u bojenju po Gramu, prikupite približno 1 ml uzorka pozitivne kulture krvi i obeležite ga sa ID-om uzorka.
- Ako će uzorak biti testiran u okviru 24 sata, držite ga u frižideru na temperaturi od 2-8 °C, ili ga čuvajte na sobnoj temperaturi. Ako će uzorak biti testiran nakon 24 sata, držite ga u frižideru na temperaturi od 2-8 °C do tri dana. Uzorke koji su čuvani na sobnoj temperaturi duže od 24 sata, ili držani u frižideru na temperaturi od 2-8 °C duže od tri dana, ne treba testirati pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa.

9 Opasnosti od hemikalija^{10, 11}

- UN GHS piktogram opasnosti: 
- Signalna reč: UPOZORENJE
- **UN GHS obaveštenja o opasnosti**
 - Štetno ako se proguta
 - Izaziva iritaciju kože
 - Izaziva ozbiljnu iritaciju očiju
- **UN GHS obaveštenja o merama predostrožnosti**
 - **Prevenција**
 - Temeljno oprati nakon rukovanja.
 - Nemojte jesti, piti, niti pušiti pri upotrebi ovog proizvoda.
 - Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu oděcu/zaštitu za oči/zaštitu za lice
 - **Reagovanje**
 - U DODIRU SA KOŽOM: Operite sa puno sapuna i vode.
 - Skinite kontaminiranu oděcu i operite je pre ponovne upotrebe.
 - Za specifično lečenje pogledajte dodatak sa informacijama o merama prve pomoći.
 - Ako dođe do iritacije kože: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
 - AKO DOSPE U OČI: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktna sočiva, ukoliko postoje i ukoliko je to moguće učiniti. Nastaviti sa ispiranjem.
 - Ako iritacija oka ne prolazi: Potražiti medicinski savet/mišljenje
 - AKO SE PROGUTA: Odmah pozovite CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili se obratite lekaru ako se ne osećate dobro.
 - Isperite usta.
 - **Skladištenje/odlaganje**
 - Odlagati sadržaj i/ili kontejner u skladu sa lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili internacionalnim propisima.

10 Postupak

10.1 Priprema patrone

Важно Ako koristite GeneXpert Dx System, započnite test u roku od 3 sata od dodavanja pripremljenog uzorka u patronu. Ako koristite GeneXpert Infinity System, obavezno započnite test i postavite patronu na transporter u roku od 30 minuta od dodavanja uzorka u patronu. Preostali rok upotrebe prati sistem pomoću Xpertise softvera, tako da se testovi započinju pre isteka roka od tri sata na instrumentu.

Da biste dodali uzorak u patronu:

1. Izvadite patronu i reagens za eluciju iz pakovanja.
2. Nežno pomešajte uzorak kulture krvi ručno. Nemojte mešati u vorteks mešalici.
3. Pomoću priložene pipete za prenos fiksne zapremine (50µl), prenesite sadržaj pipete sa fiksnom zapreminom koji sadrži uzorak pozitivne kulture krvi u bočicu sa reagensom za eluciju prateći korake u nastavku:
 - a. Čvrsto stisnite gornji balon pipete.
 - b. Dok ga držite stisnutim, postavite vrh pipete u uzorak.
 - c. Dok je pipeta još u uzorku, otpustite pritisak sa balona da biste napunili pipetu.
 - d. Postavite vrh pipete preko ivice bočice sa reagensom za eluciju.
 - e. Čvrsto stisnite gornji balon da biste ispraznili sadržaj pipete u bočicu sa reagensom za eluciju. Normalno je da višak tečnosti ostane u balonu.

Напомена Koristite sterilnu gazu za rukovanje štapićem kako biste rizik od kontaminacije sveli na minimum.

4. Zatvorite bočicu sa reagensom za eluciju i pomešajte je u vorteks mešalici pri velikoj brzini u trajanju od 10 sekundi.
5. Otvorite poklopac patrone. Pomoću sterilne pipete za prenos (nije priloženo), prenesite celokupan sadržaj reagensa za eluciju u komoru za uzorke patrone Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Pogledajte Slika 1.
6. Zatvorite poklopac patrone i započnite test.



Slika 1. MRSA/SA Blood Culture patrona (pogled odozgo)

10.2 Pokretanje testa

- Za GeneXpert Dx System, pogledajte Odeljak 10.2.1.
- Za GeneXpert Infinity System, pogledajte Odeljak 10.2.2.

10.2.1 GeneXpert Dx System Započinjanje testa

Pre nego što započnete test, uverite se da:

- Важно**
- Na sistemu radi ispravna verzija GeneXpert Dx softvera prikazana u odeljku Materijali koji su potrebni, ali nisu obezbeđeni.
 - Uverite se da je u softver uvezena odgovarajuća datoteka definicije testa.

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za započinjanje testa. Za detaljna uputstva, pogledajte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Напомена Koraci koje pratite mogu se razlikovati ako je administrator sistema promenio podrazumevani tok rada sistema.

1. Uključite GeneXpert Dx System, zatim uključite računar i prijavite se. GeneXpert softver će se automatski pokrenuti. Ako do toga ne dođe, dvaput kliknite na ikonu prečice za GeneXpert Dx softver na Windows® radnoj površini.
2. Prijavite se pomoću vašeg korisničkog imena i lozinke.
3. U prozoru **GeneXpert Dx System**, kliknite na **Kreiraj test (Create Test)**. Prikazuje se prozor **Kreiraj test (Create Test)**. Otvara se okvir za dijalog **Skeniraj bar-kod za ID pacijenta (Scan Patient ID barcode)**.
4. Skenirajte ili ukucajte ID pacijenta (Patient ID). Ako unosite ID pacijenta (Patient ID), pobrinite se da ID pacijenta (Patient ID) bude tačno upisan. ID pacijenta je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima. Otvara se okvir za dijalog **Skeniraj bar-kod za ID uzorka (Scan Sample ID barcode)**.
5. Skenirajte ili unesite ID uzorka (Sample ID). Ako unosite ID uzorka (Sample ID), pobrinite se da ID uzorka (Sample ID) bude tačno unet. ID uzorka je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima. Otvara se okvir za dijalog **Skeniraj bar-kod patrone (Scan Cartridge barcode)**.
6. Skenirajte bar-kod na patroni. Korišćenjem informacija sa bar-koda, softver automatski popunjava sledeća polja: Izbor testa (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), serijski broj patrone (Cartridge SN) i datum isteka roka (Expiration Date).

Напомена Ako se bar-kod na patroni ne skenira, ponovite test sa novom patronom. Ako ste skenirali bar-kod patrone u softveru i datoteka za definiciju testa nije dostupna, pojavice se ekran koji pokazuje da datoteka za definiciju testa nije učitana u sistem. Ako se pojavi ovaj ekran, obratite se tehničkoj podršci kompanije Cepheid.

7. Kliknite na **Pokreni test (Start Test)**. U okviru za dijalog koji se pojavljuje, ukucajte lozinku, ako je potrebno.
8. Otvorite vrata modula instrumenta na kojima trepće zeleno svetlo i ubacite patronu.
9. Zatvorite vrata. Test započinje i zeleno svetlo prestaje da trepće.
Kada je test završen, svetlo se gasi.
10. Sačekajte dok sistem ne otpusti bravu vrata pre nego što otvorite vrata modula, a zatim izvadite patronu.
11. Bacite korišćene patrone u odgovarajuće kontejnere za otpad uzoraka u skladu sa standardnom praksom vaše ustanove.

Prikazivanje i štampanje rezultata

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za prikazivanje i štampanje rezultata. Za detaljnija uputstva o prikazivanju i štampanju rezultata, pogledajte *GeneXpert Dx sistemski priručnik za operatera*.

1. Kliknite na ikonu **Prikaz rezultata (View Results)** da pregledate rezultate.
2. Po završetku testa, kliknite na dugme **Izveštaj (Report)** u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** da biste pogledali i/ili generisali PDF datoteku izveštaja.

10.2.2 GeneXpert Infinity System Započinjanje testa

Pre nego što započnete test, uverite se da:

- Важно**
- Na sistemu radi ispravna verzija Xpertise softvera prikazana u odeljku Materijali koji su potrebni, ali nisu obezbeđeni.
 - Uverite se da je u softver uvezena odgovarajuća datoteka definicije testa.

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za započinjanje testa. Za detaljna uputstva, pogledajte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Напомена Koraci koje pratite mogu se razlikovati ako je administrator sistema promenio podrazumevani tok rada sistema.

1. Uključite instrument. Xpertise softver će se pokrenuti automatski. Ako do toga ne dođe, dvaput kliknite na ikonu prečice za Xpertise softver na Windows® radnoj površini.
2. Prijavite se na računar, zatim se prijavite na GeneXpert Xpertise softver pomoću vašeg korisničkog imena i lozinke.
3. U radnom prostoru **Početa strana za Xpertise softver (Xpertise Software Home)** kliknite na **Naloz (Orders)** i u radnom prostoru **Naloz (Orders)** kliknite na **Nalog za test (Order Test)**. Pojavljuje se radni prostor **Nalog za test - ID pacijenta (Order Test - Patient ID)**.
4. Skenirajte ili ukucajte ID pacijenta (Patient ID). Ako unosite ID pacijenta (Patient ID), pobrinite se da ID pacijenta (Patient ID) bude tačno upisan. ID pacijenta je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima.
5. Unesite sve dodatne informacije potrebne za vašu ustanovu, a zatim kliknite na dugme **NASTAVI (CONTINUE)**. Pojavljuje se radni prostor **Nalog za test - ID uzorka (Order Test - Sample ID)**.
6. Skenirajte ili unesite ID uzorka (Sample ID). Ako unosite ID uzorka (Sample ID), pobrinite se da ID uzorka (Sample ID) bude tačno unet. ID uzorka je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima.
7. Kliknite na dugme **NASTAVI (CONTINUE)**. Pojavljuje se radni prostor **Nalog za test - Test (Order Test - Assay)**.
8. Skenirajte bar-kod na patroni. Korišćenjem informacija sa bar-koda, softver automatski popunjava sledeća polja: Izbor testa (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), serijski broj patrone (Cartridge SN) i datum isteka roka (Expiration Date).

Напомена Ako se bar-kod na patroni ne skenira, ponovite test sa novom patronom. Ako ste skenirali bar-kod patrone u softveru i datoteka za definiciju testa nije dostupna, pojavice se ekran koji pokazuje da datoteka za definiciju testa nije učitana u sistem. Ako se pojavi ovaj ekran, obratite se tehničkoj podršci kompanije Cepheid.

Nakon skeniranja patrone pojavljuje se radni prostor **Nalog za test - Informacije o testu (Order Test - Test Information)**.

9. Potvrdite da su informacije tačne a zatim kliknite na **Prosledi (Submit)**. U okviru za dijalog koji se pojavljuje, ukucajte lozinku, ako je potrebno.
10. Postavite patronu na pokretnu traku. Patrona će se automatski ubaciti, test će se pokrenuti, a iskorišćena patrona će biti postavljena u kontejner za otpad.

Prikazivanje i štampanje rezultata

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za prikazivanje i štampanje rezultata. Za detaljnija uputstva o tome kako pregledati i odštampati rezultate, pogledajte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. U radnom prostoru **Početa strana za Xpertise softver (Xpertise Software Home)**, kliknite na ikonu **REZULTATI (RESULTS)**. Prikazuje se meni Rezultati.
2. U meniju Rezultati, izaberite dugme **PRIKAZ REZULTATA (VIEW RESULTS)**. Prikazuje se radni prostor **Prikaz rezultata (View Results)** koji prikazuje rezultate testa.
3. Kliknite na dugme **IZVEŠTAJ (REPORT)** da biste pogledali i/ili generisali PDF datoteku izveštaja.

11 Kontrola kvaliteta

11.1 Ugrađene kontrole kvaliteta

Svaki test uključuje kontrolu obrade uzorka (SPC) i kontrolu provere probe (PCC).

- **Kontrola obrade uzorka (SPC)** — SPC je namenjena da ukaže na to da li je uzorak obrađen u okviru navedenih operativnih uslova. SPC sadrži spore Bacillus globigii u obliku zrna sa suvim sporama koje je uključeno u svaku patronu, kako bi se potvrdila odgovarajuća obrada uzorka Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. SPC potvrđuje da se liza SA dogodila ako su mikroorganizmi prisutni i potvrđuje da je obrada uzorka odgovarajuća. Pored toga, ova kontrola detektuje inhibiciju PCR reakcija u realnom vremenu povezanih sa uzorkom i predstavlja unutrašnju pozitivnu kontrolu. SPC signal treba da bude pozitivan u negativnom uzorku, a može biti negativan ili pozitivan u pozitivnom uzorku.

SPC je uspešna ako su ispunjeni kriterijumi prihvatljivosti. Test će biti Nevažeci (Invalid) ako SPC nije detektovana u negativnom uzorku.

- **Kontrola provere probe (PCC)** — Pre početka PCR reakcije, GeneXpert Instrument Systems mere fluorescentni signal sa proba kako bi nadgledali rehidrataciju zrna, punjenje reakcione epruvete, integritet probe i stabilnost boje. Provera probe je uspešna ako podaci ispunjavaju dodeljene kriterijume prihvatljivosti.

11.2 Spoljne kontrole

Spoljne kontrole treba koristiti u skladu sa lokalnim, državnim i saveznim zahtevima organizacija za akreditaciju, prema potrebi.

KWIK-STIKs (Microbiologics, kataloški broj 0158 MRSA [SCC*mec* tip II] i kataloški broj 0360 MSSA kao pozitivne kontrole i broj 0371 MSSE kao negativna kontrola) mogu se koristiti za obuku i kao spoljna kontrola kvaliteta (QC) za GeneXpert Instrument System. Sledite Microbiologics postupak za spoljnu kontrolu, opisan u nastavku:

1. Pocepajte i otvorite vrećicu na zarezu i uklonite KWIK-STIK.
2. Da biste oslobodili hidratantnu tečnost, stiskajte dno ampule na vrhu KWIK-STIK poklopca dok ne čujete da se ampula lomi.
3. Držite uspravno i lupkajte kako biste olakšali protok tečnosti kroz vrat prema dnu jedinice koja sadrži pelet.
4. Da biste olakšali rastvaranje liofilizovanog ćelijskog peleta, zdrobite pelet i pomešajte ga u tečnosti pomoću stezanja. Opipajte strane KWIK-STIK-a da biste potvrdili da se pelet više ne može opipati.
5. Razdvojite KWIK-STIK da biste oslobodili štapić i polomite ga u epruvetu koja sadrži reagens za eluciju (poklopac sa navojima).
6. Zatvorite poklopac za eluciju i promešajte je u vorteks mešalici pri velikoj brzini u trajanju od 10 sekundi.
7. Nastavite sa daljim koracima testiranja počevši od 5. koraka u Odeljku 10.1, Priprema patrone.
8. Ako performanse spoljne QC ne budu onakve kakve se očekuju, ponovite test spoljne kontrole i/ili se obratite kompaniji Cepheid za pomoć.

12 Tumačenje rezultata

GeneXpert Instrument Systems generišu rezultate iz izmerenih fluorescentnih signala i izračunatih algoritama koje koristi GeneXpert Instrument Systems softver. Rezultati se mogu videti u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)**. Pogledajte Tabela 1 i Slika 2, Slika 3, Slika 4 i Slika 5.

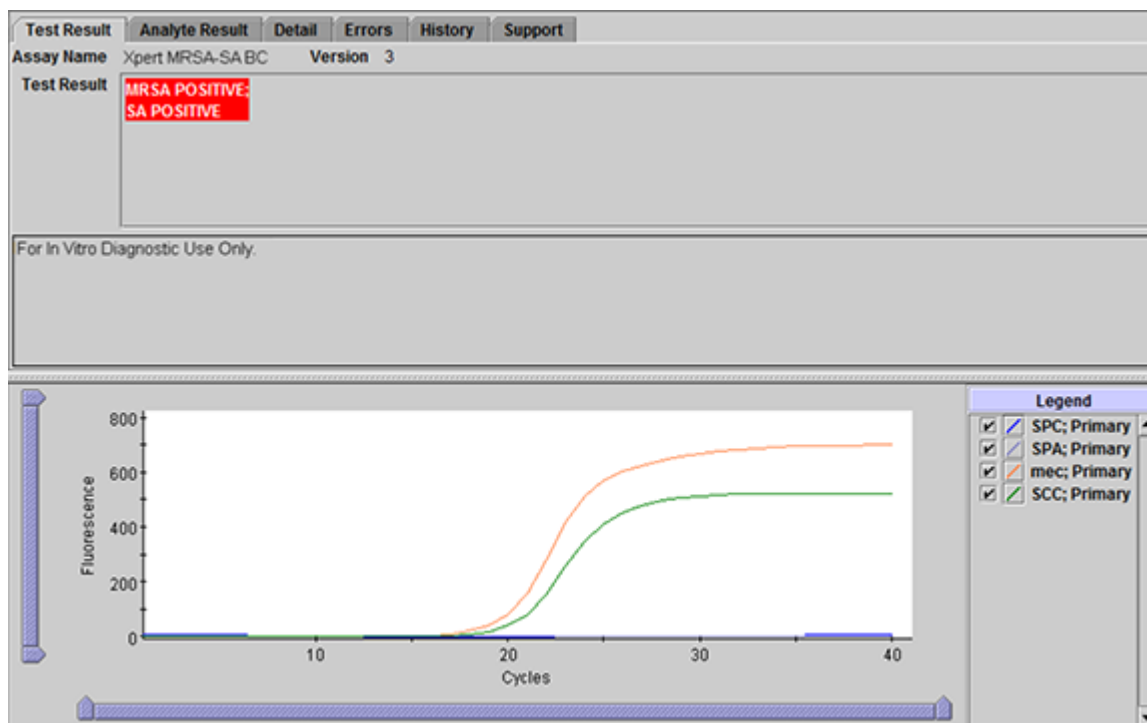
Za MRSA koji je prisutan u bočici za kulturu krvi u odsustvu bilo koje druge bakterijske vrste, analiza koristi algoritme zasnovane na pravilima, gde se vrednosti praga ciklusa (Ct) tri cilja (*spa*, *mecA* i *SCCmec*) porede, kako bi se odredilo da li se ciljevi isporučuju iz istog MRSA mikroorganizma.

Tabela 1. Rezultati i tumačenja Xpert MRSA/SA Blood Culture testa

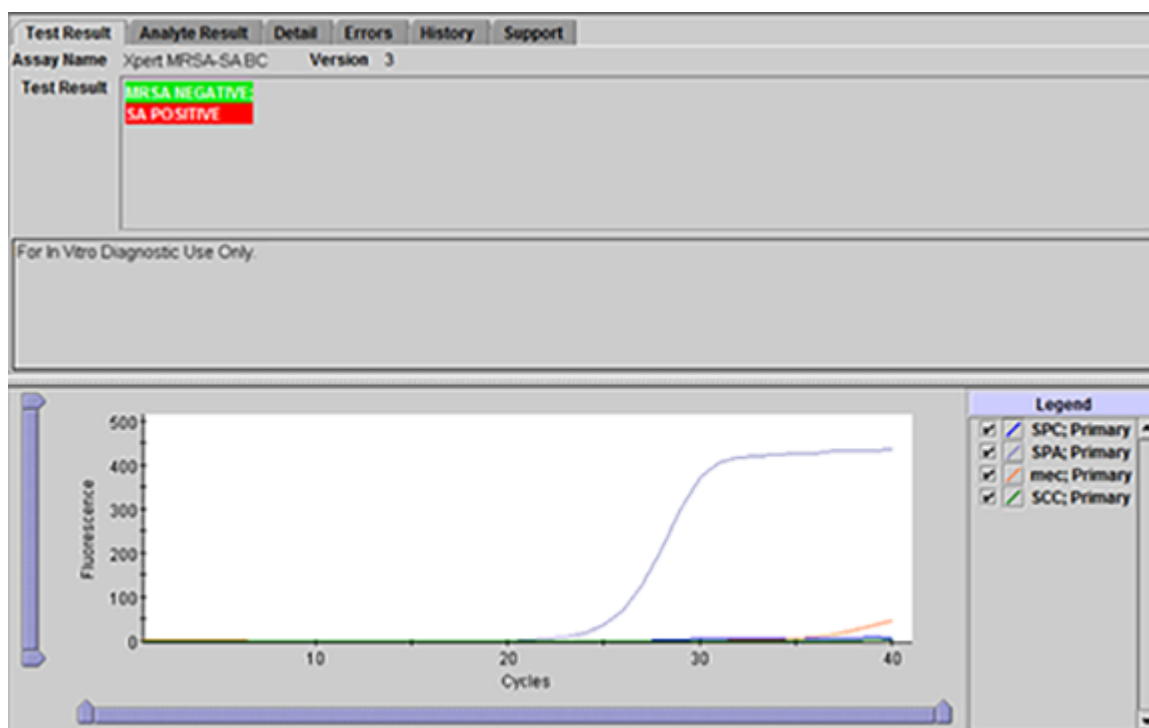
Rezultat	Tumačenje
----------	-----------

Rezultat	Tumačenje
MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE)/SA POZITIVNO (SA POSITIVE) (Slika 2)	<p>MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE)/SA POZITIVNO (SA POSITIVE) — Ako dođe do bilo kojih sledećih stanja:</p> <ul style="list-style-type: none"> • svi MRSA ciljevi (<i>spa</i>, <i>mecA</i> i <i>SCCmec</i>) su prisutni, ili • <i>SCCmec</i> nije prisutan, uslovi algoritma zasnovanog na pravilima su ispunjeni za Ct vrednosti <i>mecA</i> i <i>spa</i>, ili • <i>spa</i> nije prisutan, uslovi algoritma zasnovanog na pravilima su ispunjeni za Ct vrednosti <i>mecA</i> i <i>SCCmec</i>. • SPC – NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)); SPC signal nije deo tumačenja rezultata u ovom slučaju, jer MRSA amplifikacija može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)/SA POZITIVNO (SA POSITIVE) (Slika 3)	<p>MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)/SA POZITIVNO (SA POSITIVE) — Ako dođe do bilo kojih sledećih stanja:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>spa</i> je prisutan i <i>mecA</i> nije prisutan, ili • <i>spa</i> nije prisutan, uslovi algoritma zasnovanog na pravilima nisu ispunjeni za Ct vrednosti <i>mecA</i> i <i>SCCmec</i>, ili • <i>SCCmec</i> nije prisutan, uslovi algoritma zasnovanog na pravilima nisu ispunjeni za Ct vrednosti <i>mecA</i> i <i>spa</i>. • SPC – NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)); SPC signal nije deo tumačenja rezultata u ovom slučaju, jer SA amplifikacija može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)/SA NEGATIVNO (SA NEGATIVE) (Slika 4)	<ul style="list-style-type: none"> • MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)/SA NEGATIVNO (SA NEGATIVE) — SA cilj (<i>spa</i>) nije prisutan, a ako dođe do bilo kojih sledećih stanja: • <i>mecA</i> nije prisutan, ili • <i>SCCmec</i> nije prisutan, ili • I <i>mecA</i> i <i>SCCmec</i> su prisutni, uslovi algoritma zasnovanog na pravilima nisu ispunjeni za Ct vrednosti <i>mecA</i> i <i>SCCmec</i>. • SPC — USPEŠNO (PASS); SPC ima Ct u važećem opsegu, a krajnju tačku iznad podešenog praga za krajnju tačku. Ili, ako je bilo koji ciljani analit pozitivan, SPC je ignorisana. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
NEVAŽEĆI (INVALID) (Slika 5)	<ul style="list-style-type: none"> • Prisustvo ili odsustvo MRSA/SA ciljanih sekvenci ne može biti određeno, ponovite test u skladu sa uputstvima u odeljku u nastavku. SPC ne ispunjava kriterijume prihvatljivosti, uzorak nije pravilno obrađen ili je PCR inhibirana. • NEVAŽEĆI (INVALID) – prisustvo ili odsustvo SA DNK ne može biti određeno. • SPC NEUSPEŠNO (SPC-FAIL) — SPC Ct ciljani rezultat je negativan, a SPC Ct nije u važećem opsegu i krajnja tačka je ispod minimalnog podešavanja. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
GREŠKA (ERROR)	<ul style="list-style-type: none"> • Prisustvo ili odsustvo MRSA/SA ciljanih sekvenci ne može biti određeno, ponovite test u skladu sa uputstvima u odeljku u nastavku. Greška se može javiti usled verovatno nepravilno napunjene reakcione epruvete, problema u integritetu probe, greške sistemske komponente ili ako su prekoračena maksimalna ograničenja za pritisak. • MRSA — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SA — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SPC — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provera probe — NEUSPEŠNO* (FAIL); jedan ili više rezultata provere probe je neuspešan. • * Ako je provera probe uspešna, grešku je uzrokovao kvar sistemske komponente ili maksimalno prekoračenje pritiska koje prelazi prihvatljivi opseg.

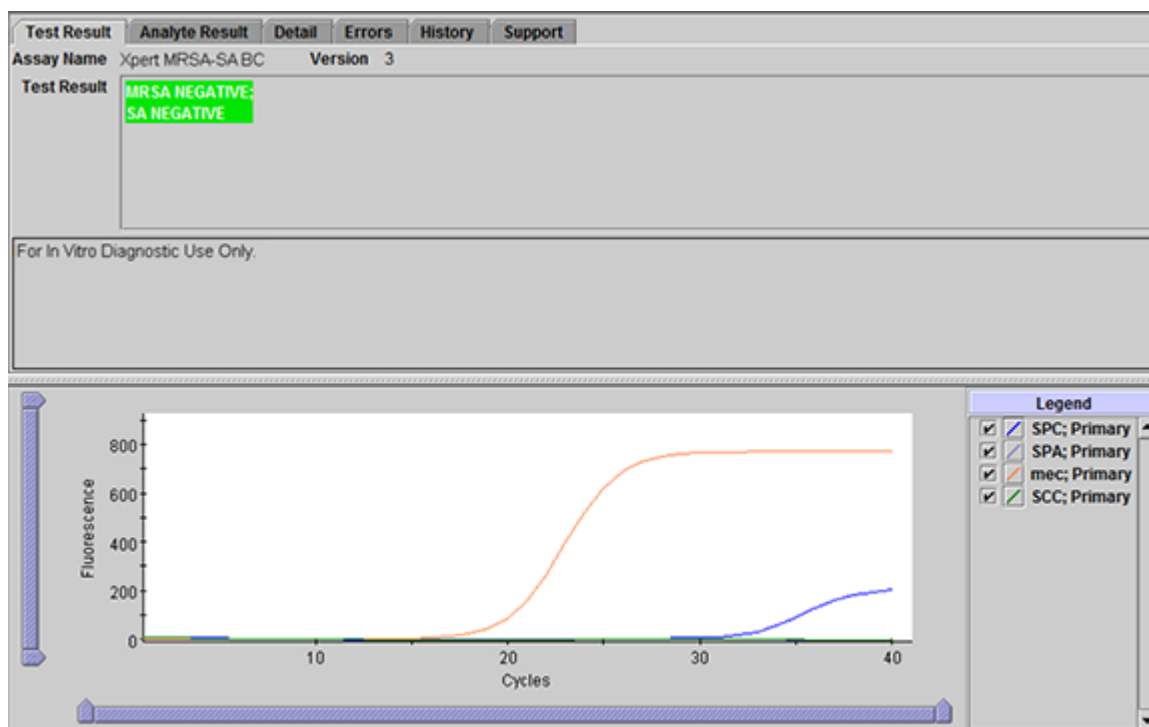
Rezultat	Tumačenje
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	<ul style="list-style-type: none"> • Prisustvo ili odsustvo MRSA/SA ciljanih sekvenci ne može biti određeno, ponovite test u skladu sa uputstvima u odeljku u nastavku. Prikupljeno je nedovoljno podataka za proizvodnju rezultata testa. Na primer, ovo se može dogoditi ako je operater zaustavio test dok je on bio u toku. • MRSA — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SA — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SPC — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provera probe – NP (nije primenjivo) (NA (not applicable))



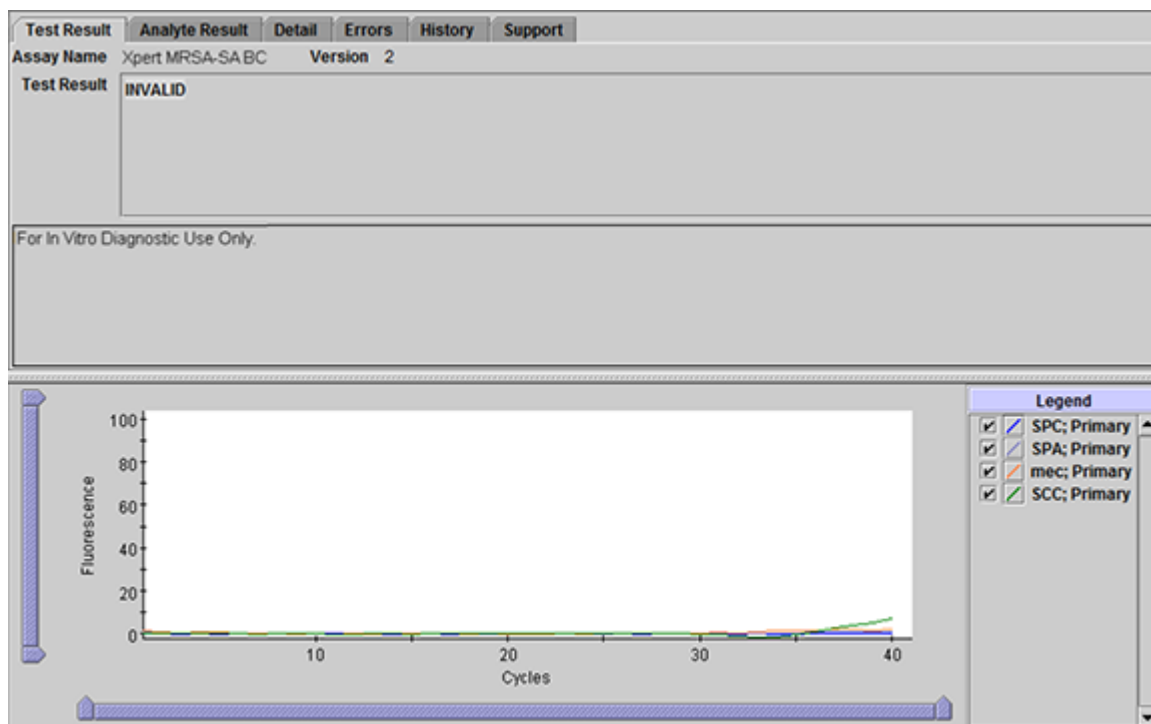
Slika 2. Primer MRSA pozitivnog rezultata



Slika 3. Primer SA pozitivnog rezultata



Slika 4. Primer negativnog rezultata



Slika 5. Primer nevažućeg rezultata

12.1 Razlozi za ponavljanje testa

Uzorak treba ponovo testirati ako se dobije neki od sledećih rezultata iz prvog testa.

- **NEVAŽEĆI (INVALID)** rezultat ukazuje na neuspeh SPC kontrole. Uzorak nije pravilno obrađen ili je PCR inhibiran.
- Rezultat **GREŠKA (ERROR)** ukazuje na to da je kontrola provere probe neuspešna i da je analiza obustavljena, moguće usled nepravilnog punjenja reakcione epruvete, ili je detektovan problem sa integritetom reagensa probe, ili jer su prekoračena maksimalna ograničenja za pritisak.
- **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** znači da nije prikupljeno dovoljno podataka. Na primer, operater je zaustavio test dok je on bio u toku.
- Ako performanse spoljne QC ne budu onakve kakve se očekuju, ponovite test spoljne kontrole i/ili se obratite kompaniji Cepheid za pomoć.

12.2 Postupak ponovnog testiranja

Ponovite test pomoću nove patronne (nemojte ponovo koristiti patronu) i nove bočice sa reagensom za eluciju.

Ako koristite GeneXpert Dx instrument, započnite test u roku od 3 sata od dodavanja pripremljenog uzorka u patronu. Ako koristite GeneXpert Infinity sistem, obavezno započnite test i postavite patronu na transporter u roku od 30 minuta od dodavanja uzorka u patronu. Preostali rok upotrebe prati sistem pomoću Xpertise softvera, tako da se testovi započinju pre isteka roka od tri sata na instrumentu.

1. Izvadite patronu i reagens za eluciju iz pakovanja.
2. Nežno pomešajte uzorak kulture krvi ručno. Nemojte mešati u vorteks mešalici.
3. Pomoću priložene pipete za prenos fiksne zapremine (50µl), prenesite sadržaj pipete sa fiksnom zapreminom koji sadrži uzorak pozitivne kulture krvi u bočicu sa reagensom za eluciju prateći korake u nastavku:
 - a. Čvrsto stisnite gornji balon pipete.
 - b. Dok ga držite stisnutim, postavite vrh pipete u uzorak.
 - c. Dok je pipeta još u uzorku, otpustite pritisak sa balona da biste napunili pipetu.
 - d. Postavite vrh pipete preko ivice bočice sa reagensom za eluciju.
 - e. Čvrsto stisnite gornji balon da biste ispraznili sadržaj pipete u bočicu sa reagensom za eluciju. Normalno je da višak tečnosti ostane u balonu.

4. Zatvorite bočicu sa reagensom za eluciju i promešajte je u vorteks mešalici pri velikoj brzini u trajanju od 10 sekundi.
5. Otvorite poklopac patrone. Pomoću sterilne pipete za prenos (nije priloženo), prenesite celokupan sadržaj bočice reagensa za eluciju u komoru za uzorke patrone Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Pogledajte Sliku 1.
6. Zatvorite poklopac patrone i započnite test.

13 Ograničenja

- Performanse Xpert MRSA/SA Blood Culture testa potvrđene su samo pomoću postupaka predviđenih u ovom uputstvu za korisnika. Modifikacije ovih postupaka mogu izmeniti performanse testa. Rezultate Xpert MRSA/SA Blood Culture testa treba tumačiti zajedno sa ostalim laboratorijskim i kliničkim podacima dostupnim lekaru.
- Performanse Xpert MRSA/SA Blood Culture testa koji koristi tipove bočica za kulturu krvi koje nisu BD BACTEC PEDS PLUS/F, BACTEC Plus Aerobic/F, BD BACTEC Plus Anaerobic/F, BD BACTEC Standard Anaerobic/F, BD BACTEC Standard/ 10 Aerobic/F, BD BACTEC LYTIC/10 Anaerobic/F, BacT/ALERT SA (standardno aerobno), BacT/ALERT SN (standardno anaerobno), VersaTREK REDOX 1 (aerobni) i VersaTREK REDOX 2 (anaerobno) bočice za kulturu krvi, nisu utvrđene.
- Medijum za kulturu krvi koji sadrži aktivni ugalj ne može se koristiti sa Xpert MRSA/SA Blood Culture testom (npr. BacT/ALERT FAN aerobno).
- Testiranje pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa treba koristiti kao dodatak drugim dostupnim metodama.
- Mutacije ili polimorfizam u regionima vezivanja prajmera ili probe mogu uticati na detekciju novih ili nepoznatih MRSA varijanti, što može dovesti do lažno negativnog rezultata.
- Pogrešni rezultati testa se mogu javiti usled nepravilnog prikupljanja uzorka; nepoštovanja preporučenog načina za prikupljanje uzorka, rukovanja i postupaka čuvanja; usled tehničke greške; zamene uzoraka; ili usled niskog broja mikroorganizama u uzorku, koje test detektuje. Da bi se izbegli pogrešni rezultati, neophodno je poštovanje uputstava u ovom prilogu.
- Rezultati Xpert MRSA/SA Blood Culture testa ponekad mogu biti NEVAŽEĆI (INVALID), GREŠKA (ERROR) ili NEMA REZULTATA (NO RESULT) i tada je potrebno ponovno testiranje, što može dovesti do odlaganja u pribavljanju konačnih rezultata.
- Ciljane koncentracije ispod LoD analize mogu biti detektovane, ali rezultati možda neće biti reproducibilni.
- Xpert MRSA/SA Blood Culture test može generisati lažno negativan MRSA rezultat kad se testira oksacilin rezistentni SA(BORSA) na granici. Mehanizam rezistencije na oksacilin u BORSA sojevima može postojati usled drugih faktora (npr. povećana proizvodnja β-laktamaze), a ne samo zbog prisustva *mecA* gena. BORSA sojevi sa oksacilin MICs od 4-8 µg/ml se smatraju rezistentnim na granici, ali mogu biti prijavljeni kao MRSA negativni pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa.
- Xpert MRSA/SA Blood Culture test može generisati lažno negativan MRSA rezultat kad se testira sa modifikovanim SA(MOD-SA). Mehanizam rezistencije na oksacilin u MOD-SA sojevima postoji usled drugih faktora (npr. promene u afinitetu penicilin vezujućih proteina za oksacilin), a ne samo prisustvo *mecA* gena. MOD-SA sojevi sa oksacilin MICs od 4-8 µg/ml se smatraju rezistentnim na granici, ali mogu biti prijavljeni kao MRSA negativni pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa.
- Xpert MRSA/SA Blood Culture test će generisati lažno negativan MRSA rezultat kad se testira soj koji sadrži *mecA* homolog, poznat kao *mecC*, kao što je SA LGA251.
- Xpert MRSA/SA Blood Culture test može generisati lažno pozitivan MRSA rezultat kad se testira uzorak koji sadrži i meticilin-rezistentan, koagulaza negativan *Staphylococcus* (MRCNS) i meticilin-osetljivi *Staphylococcus aureus*.
- Xpert MRSA/SA Blood Culture test može generisati lažno negativan MRSA rezultat kad se testira uzorak kulture krvi koji sadrži više sojeva.
- Pozitivan rezultat testa ne ukazuje nužno na prisustvo vijabilnih mikroorganizama. Međutim, pretpostavlja se prisustvo MRSA ili SA.

14 Očekivane vrednosti

U Xpert MRSA/SA Blood Culture kliničkoj studiji, testirano je ukupno 792 uzorka kulture krvi iz osam centara širom Sjedinjenih Država. Broj i procenat pozitivnih uzoraka, kako je određeno pomoću metode referentne kulture, izračunati su po starosnoj grupi i prikazani u Tabeli 2.

Tabela 2. Uočena prevalencija MRSA i SA po kulturi

Starosna grupa	Ukupan broj	MRSA po kulturi		SA po kulturi	
		Broj pozitivnih	Uočena prevalencija	Broj pozitivnih	Uočena prevalencija
0-20 godina	22	2	9,1%	7	31,8%
21-30 godina	43	8	18,6%	10	23,3%
31-40 godina	65	8	16,9%	25	38,5%
41-50 godina	124	22	17,7%	45	36,3%
51-60 godina	154	23	14,9%	48	31,8%
61-70 godina	165	15	19,1%	46	27,9%
>70 godina	219	24	11,0%	54	24,7%
Ukupno	792	105	13,3%	236	29,8%

15 Karakteristike performansi

Ažurirana datoteka za definiciju analize sa algoritmima zasnovanim na pravilima i izdanje novog GeneXpert softvera koji podržavaju ovo ažuriranje, potvrđene su ponovnim analizama originalnih podataka o kliničkim performansama i podskupa originalnih podataka o analitičkim performansama, uključujući LoD, inkluzivnost, ekskluzivnost, potencijalno ometajuće supstance, reproducibilnost i preciznost. Ponovne analize pokazale su da su uređaji suštinski ekvivalentni.

15.1 Kliničke performanse

Karakteristike performansi Xpert MRSA/SA Blood Culture testa određene su u multicentričnoj prospektivnoj istraživačkoj studiji u osam ustanova u SAD-u, poređenjem Xpert MRSA/SA Blood Culture testa sa kulturom.

Ispitanici su bili pojedinci čija je rutinska nega zahtevala testiranje na kulture krvi. Ako je uzorak kulture krvi bio pozitivan na mikrobnom rastu, a bojenje po Gramu pokazalo Gram-pozitivne koke (pojedinačne ili u klasterima), uzorak je bio podoban za uključivanje u kliničku studiju, a alikvoti preostalog materijala iz kulture dobijeni su za testiranje pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Postupci kultivisanja i bojenja po Gramu, kao i upravljanje pacijentom, nastavljani su u centrima u skladu sa standardnom praksom.

Testiranje osjetljivosti je obavljeno u skladu sa CLSI dokumentima M2-A11 i M100-S22.^{12,13} Rezultati difuzije cefoksitin diska su korišćeni kao surogat za detekciju meticilin/oksacilin rezistencije.

Performanse Xpert MRSA/SA Blood Culture testa izračunate su kao procenat poklapanja sa rezultatima referentne kulture.

15.2 Sveukupni rezultati

Testirano je ukupno 792 uzorka na MRSA i SA pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa i kulture.

Kad se poredi sa metodom referentne kulture, Xpert MRSA/SA Blood Culture test je identifikovao 98,1% uzoraka pozitivnih na MRSA i 99,6% uzoraka negativnih na MRSA.

Kad se poredi sa metodom referentne kulture, Xpert MRSA/SA Blood Culture test je identifikovao 99,6% uzoraka pozitivnih na SA i 99,5% uzoraka negativnih na SA.

Performanse Xpert MRSA/SA Blood Culture testa sumirane su u Tabeli 3.

Tabela 3. Performanse Xpert MRSA/SA BC naspram referentne kulture

		Kultura			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Bez rasta	Ukupno
Xpert	MRSA +	103	2	1	106
	SA+/MRSA-	2	128	2	132
	SA-	0	1	553	554
	Ukupno	105	131	556	792
Xpert performanse	MRSA	PPA: 98,1% (103/104/105, 95% CI: 93,3-99,8)			
		NPA: 99,6% (684/687, 95% CI: 98,7-99,9)			
	SA	PPA ^a : 99,6% (235/236, 95% CI 97,7-99,9)			
		NPA ^b : 99,5% (553/556, 95% CI ^c : 98,4-99,9)			

^a Procenat pozitivnog poklapanja

^b Procenat negativnog poklapanja

^c Interval poverenja

Od Xpert MRSA/SA Blood Culture ciklusa testova obavljenih na podobnim uzorcima, 96,1% (764/795) ovih uzoraka bilo je uspešno pri prvom pokušaju. Preostao 31 ciklus dao je neodređene rezultate pri prvom pokušaju: 1: NEVAŽEĆI (INVALID), 22: GREŠKA (ERROR) I 8: NEMA REZULTATA (NO RESULT). Trideset slučajeva od 31 neodređenog slučaja bilo je ponovo testirano; jedan uzorak nije ponovo testiran. Dvadeset osam od 30 neodređenih slučajeva je ponovo testirano, dajući važeći rezultat pri ponovljenoj analizi. Sveukupna stopa uspešnosti analize bila je 99,6% (792/795).

16 Analitičke performanse

16.1 Granica detekcije

Izvedene su studije kako bi se odredili parametri procene i dvostrani intervali poverenja od 95% za analitičku granicu detekcije (LoD) SA ćelija i meticilin-rezistentnih (MRSA) ćelija razblaženih u simuliranom matriksu negativne kulture krvi, koje se mogu detektovati pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Matriks se sastojao od SA-slobodne pune krvi i MSSE (metocilin-osetljivi *Staphylococcus epidermidis*) ćelija pri 10⁶ CFU/ml dodatih u medijum kulture krvi. Granica detekcije je definisana kao najniži broj jedinica formiranja kolonija (CFU) po uzorku koji se može ponovljivo razlikovati od negativnih uzoraka sa 95% pouzdanosti, ili najniža koncentracija pri kojoj je 19 od 20 replikata bilo pozitivno.

Za MRSA, 20 replikata je procenjeno pri svakoj testiranoj koncentraciji MRSA (CFU/test) za 10 pojedinačnih izolata koji su predstavljali SCC*mec* tipove I, II, III, IVa, IVd, V i VI, VII i VIII. Karakterizacijom pomoću gel elektroforeze pulsnog polja (PFGE), predstavljeni su soj USA100 koji je najčešći bolnički soj i soj USA400, koji je jedan od najčešćih vanbolničkih sojeva.

Za SA, 20 replikata je procenjeno pri svakoj SA koncentraciji (CFU/test) za 3 pojedinačna SA izolata. Predstavljeni su USA tipovi USA900 i USA1200.

Parametri procene i intervali poverenja određeni su pomoću probit regresije korišćenjem podataka (tj. broj pozitivnih rezultata po broju replikata na svakom nivou) u opsegu testiranih CFU/test učitavanja. Intervali poverenja određeni su pomoću procena maksimalne verovatnoće na parametrima probit modela pomoću velikog matriksa varijanse-kovarijanse uzorka. Parametri procene LoD i intervali poverenja veći ili manji od 95% za svaki testirani SA i svaki MRSA SCC*mec* tip, sumirani su u Tabeli 4 i Tabeli 5.

Tabela 4. LoD i intervali poverenja od 95% -SA

SA soj	PFGE ID	Potvrđena LoD (CFU/test) [najmanje 19/20 pozitivno]	LoD procena (probit analiza regresije) (CFU/test)		
			Donji CI od 95%	LoD procena	Gornji CI od 95%
102-04 ^a	USA1200	100 (19/20)	60,4	74,5	101,6
29213 ^b	nepoznato	150 (19/20)	120,1	138,2	172,7
N129 ^a	USA900	300 (19/20)	224,2	255,2	314,8

^a Izvor soja: Kolekcija kulture američkog tipa (ATCC), Manassas, VA SAD

^b Izvor soja: Centri za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC), Atlanta, GA, SAD

Tabela 5. LoD i intervali poverenja od 95% - MRSA

MRSA ID soja	PFGE ID	Potvrđena LoD (CFU/test) [najmanje 19/20 pozitivno]	LoD procena (probit analiza regresije) (CFU/test)		
			Donji CI od 95%	LoD procena	Gornji CI od 95%
Tip I (64/4176) ^a	USA500	350 (19/20)	332,3	366,8	433,5
Tip II (N315) ^b	USA100 ^c	175 (19/20)	113,7	137,0	178,1
Tip III (11373) ^b	nepoznato	225 (19/20)	191,9	222,6	273,9
Tip IVa (MW2) ^b	USA400 ^c	350 (19/20)	313,1	356,1	427,0
Tip V (ST59) ^d	USA1000 ^c	250 (19/20)	218,2	243,1	282,3
Tip VI (HDE288) ^{ef}	USA800 ^c	250 (19/20)	222,2	246,0	385,0
Tip VII (JCSC6082) ^a	nepoznato	300 (19/20)	264,1	288,0	347,1
Tip VIII (WA MRSA-16) ^d	nepoznato	400 (19/20)	348,7	386,7	499,1
Tip II (BK2464) ^b	USA100 ^g	125 (19/20)	94,3	116,1	162,0
Tip IVd (BK2529) ^{bf}	USA500 ^g	200 (19/20)	120,8	148,8	202,5

^a Teruyo Ito, Odeljenje za bakteriologiju, Medicinski univerzitet Juntendo, Tokyo, Japan

^b Barry Kreiswirth, direktor Istraživačkog instituta za javno zdravlje (PHRI), Newark, NJ, SAD

^c K. Bonnstetter et al., J Clin Micro 2007, p. 141-146; L. McDougal et al., J Clin Micro 2003, p. 5113-5120

^d Geoffrey Coombs, Odeljenje za mikrobiologiju i zarazne bolesti, Royal Perth Hospital, Perth, WA

^e Hermina deLencastre, Laboratorija za molekularnu genetiku, Institut za tehnološku hemiju i biologiju (ITQB), Univerzitet Nova iz Lisabona, Oeiras, Portugalija

^f Heterogeni oksacilin rezistentni izolati

^g Barry Kreiswirth, personalna komunikacija

Rezultati ove studije ukazuju na to da će Xpert MRSA/SA Blood Culture test proizvesti pozitivan SA rezultat u 95% vremena u alikvotu pozitivne kulture krvi (50 µl) koji sadrži 300 CFU i pozitivan MRSA rezultat u 95% vremena za alikvot pozitivne kulture krvi (50µl) koji sadrži 400 CFU.

16.2 Studija analitičke inkluzivnosti (reaktivnost)

Testirano je dvesta pedeset (250) SA sojeva (47 MSSA i 203 MRSA) iz više izvora pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Izbori predstavljaju primarne linije sa naglaskom na specifične klonalne komplekse u okviru kojih je predominantno uočen MRSA. Obuhvaćene su linije koje sadrže MRSA i MSSA, kao i one koje sadrže samo MSSA. Prilikom karakterizacije pomoću gel elektroforeze pulsog polja (PFGE), obuhvaćeni su i brojni SAD tipovi, uključujući USA100, koji je najčešći bolnički soj i USA300 i USA400, koji su najčešći vanbolnički sojevi.¹⁴ Testirani su i sojevi koji predstavljaju varijante „prazne kasete” i heterogeni sojevi, identifikovani kao SA oksacilin rezistentan na granici (npr. oksacilin MIC vrednosti 4-8 µg/ml) ili BORSA.

Svi sojevi su testirani u triplikatom pomoću 10 µl suspenzije ćelija stacionarne faze razblažene milion puta. Broj jedinica formiranja kolonija po analizi (CFU/test), određen je pomoću broja preparata u triplikatom. Svi rezultati su tačno prijavljeni pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa, osim jednog uzorka. Xpert MRSA/SA Blood Culture test je netačno identifikovao jedan (1) SA soj (LGA251) kao MSSA umesto MRSA. LGA251 sadrži novi *mecA* gen koji predstavlja divergentni *mecA* homologi *mecC* (tj. *mecA*_{LGA251}) koji se nalazi u novom *mec* elementu stafilokoknog hromozoma, označen kao SCC *mec*tip XI. *mec* prajmeri i probe u MRSA/SA Blood Culture testu neće detektovati *mecC* gen u ovom soju usled mutacija na regionima vezivanja prajmera/ probe. *mecC* gen ima suštinski značajne razlike u homologiji kad se poredi sa *mecA* genom u drugim nevarijantnim MRSA sojevima.

16.3 Analitička specifičnost (ekskluzivnost)

Prikupljen je sto jedan (101) mikroorganizam/soj, koji je kvantifikovan i testiran pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Od 101 testiranog soja, 91 kultura je pribavljena iz Kolekcije kultura američkog tipa (ATCC); 1 je pribavljena iz Kolekcije kultura Univerziteta u Geteborgu, Švedska (CCUG); 1 je pribavljena iz Teruyo Ito Univerziteta Juntendo, Tokio, Japan; 1 soj *Klebsiella pneumoniae* koja proizvodi karbapenemazu (KPC) pribavljen je iz Nacionalne kolekcije tipova kultura (NCTC), UK; i 7 sojeva je pribavljeno iz Mreže antimikrobne rezistencije u SA (NARSA). Ovi sojevi predstavljaju vrste koje su filogenetski povezane sa SA ili onima koje se potencijalno mogu sresti u bolničkom okruženju.

Mikroorganizmi koji su testirani, identifikovani su ili kao Gram-pozitivni (74), Gram-negativni (24), ili gljivice (3). Ovim je obuhvaćen i meticilin osetljivi koagulaza-negativan *Staphylococcus* MRCoNS (27) i meticilin-rezistentan koagulaza-negativan *Staphylococcus*, MRCoNS (12). Mikroorganizmi su dalje klasifikovani ili kao aerobni (94) ili anaerobni (7).

Tri replikata svakog izolata su testirana pri 1,7 – 3,2 Mefarlandovih (McFarland) jedinica. U uslovima u kojima se obavljala studija, svi izolati su prijavljeni kao **MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)**; **SA NEGATIVNO (SA NEGATIVE)**; nijedan od izolata nije detektovan pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Analitička specifičnost je bila 100%.

16.4 Studija ometajućih supstanci

Supstance koje mogu biti prisutne u kulturama krvi i koje imaju potencijal da ometaju Xpert MRSA/SA Blood Culture test, testirane su u studiji ometajućih supstanci. Potencijalno ometajuće supstance koje su procenjene uključuju, ali nisu ograničene na antikoagulisano punu krv sa ACD, EDTA, heparinom i natrijum-citratom, humanu plazmu, tri bočice sa medijumima za kulturu krvi (Becton Dickinson BACTEC Plus Aerobic/F, BioMérieux BacT/ALERT SA (standardno aerobno) i TREK Diagnostics VersaTREK REDOX1 (aerobno), bilirubin, γ-globulin, hemoglobin, trigliceride i natrijum.polianetolsulfonat (SPS).

Bilirubin, γ-globulin, hemoglobin i trigliceridi su testirani pri koncentracijama koje su približno za jedan log veće od referentnih nivoa. SPS je testiran pri 10-struko većoj koncentraciji od one koja se nalazi u medijumu kulture krvi. Negativni uzorci (n=8) su testirani u svakoj supstanci kako bi se odredio uticaj na performanse kontrole obrade uzorka (SPC). Testirani su pozitivni uzorci (n=8) po supstanci sa dva klinička izolata, MSSA (29213 i 102-04) i MSSA (SCC*mec* tipovi II i III) dodatih blizu analitičke LoD, koja je određena za svaki izolat. Svi rezultati su poredeni sa pozitivnim i negativnim kontrolama pufera. Svi negativni uzorci su tačno prijavljeni kao **MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)**; **SA NEGATIVNO (SA NEGATIVE)** pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa.

Nijedna potencijalno ometajuća supstanca nema statistički značajan inhibicioni efekat na performanse SPC u negativnim uzorcima (p-vrednost = >0,05). Svi pozitivni MSSA uzorci su tačno prijavljeni kao **MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)**; **SA POZITIVNO (SA POSITIVE)** pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Svi pozitivni MRSA uzorci su tačno prijavljeni kao **MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE)**; **SA POZITIVNO (SA POSITIVE)** pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Nijedna potencijalno ometajuća supstanca nije dala razliku u Ct vrednosti ≥1 po ciklusu u odnosu na kontrole pufera, a lažno negativni rezultati nisu prijavljeni.

16.5 Studija prenošenja kontaminacije

Sprovedena je studija da bi se demonstriralo da GeneXpert samostalne patrone za jednokratnu upotrebu sprečavaju prenos kontaminacije u ciklusima negativnih uzoraka nakon velikog broja pozitivnih uzoraka u istom GeneXpert modulu. Studija se sastojala od negativnog uzorka obrađenog u istom GeneXpert modulu, odmah nakon visoko pozitivnog uzorka (6×10^7 MSSA ili MRSA ćelije) u istom modulu GeneXpert Dx sistema. Ova je ponovljeno 40 puta između 2 GeneXpert modula. Testirano je ukupno 84 ciklusa po soju (40 pozitivna uzorka po sistemu, po soju i 44 negativna uzorka po sistemu, po soju). Nije bilo dokaza o bilo kakvom prenosu kontaminacije. Svih 40 MRSA pozitivnih uzoraka je tačno prijavljeno kao **MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE)**; **SA POZITIVNO (SA POSITIVE)**. Svih 40 MSSA pozitivnih uzoraka je tačno prijavljeno kao **MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)**; **SA POZITIVNO (SA POSITIVE)**. Svih 88 negativnih uzoraka je tačno prijavljeno kao **MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)**; **SA NEGATIVNO (SA NEGATIVE)**.

16.6 Potvrda bočice sa kulturom krvi

Performanse Xpert MRSA/SA Blood Culture testa procenjene su pomoću sedam dodatnih tipova medijuma kulture krvi. Sledeći tipovi bočica su procenjeni i na MRSA i na MSSA. Pogledajte Tabelu 6.

Tabela 6. Bočice sa kulturom krvi

BDBACTEC™ PEDS PLUS™/F
BDBACTEC™ Plus Anaerobic/F
BD BACTEC™ Standard Anaerobic/F
BD BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
BDBACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
BacT/ALERT® SN standardno anaerobno
VersaTREK™ REDOX™ 2 (anaerobno)

Kreirani su pozitivni uzorci kulture krvi za svaki tip bočice dodavanjem negativne humane pune krvi i jednog MRSA soja i jednog MSSA soja pojedinačno, do konačne bakterijske koncentracije od 10 CFU/ml po bočici. Bočice sa kulturom krvi inkubirane su dok nisu bile pozitivne na rast. Nakon postizanja pozitivnosti bočice, testiran je alikvot svakog uzorka pri 1500 CFU/test u replikatima od šest za svaki tip bočice. Svi pozitivni replikati dali su očekivani pozitivan rezultat za ciljane analite prisutne u uzorku.

Kreirani su negativni uzorci kulture krvi za svaki tip bočice dodavanjem negativne pune krvi i inkubacijom od 24 sata pre testiranja pomoću Xpert MRSA/SA Blood Culture testa. Svi negativni replikati dali su očekivani negativan rezultat.

17 Reproducibilnost

Reproducibilnost Xpert MRSA/SA Blood Culture testa procenjena je u tri centra pomoću uzoraka koji su se sastojali od kultivisanog materijala dodatog u simulirani matriks. Uzorci su pripremljeni pri nivoima koncentracija koje su predstavljale visoko negativne (ispod LoD), nisko pozitivne ($\sim 1X$ LoD) i umereno pozitivne ($\sim 2-3X$ LoD) koncentracije za MRSA i MSSA. Korišćena su dva različita soja MRSA. Bili su uključeni i članovi negativnog panela i sastojali su se od *Staphylococcus epidermidis* dodatog u simulirani matriks. Panel od 11 uzoraka testiran je u toku pet različitih dana od strane dva različita operatera, tri puta dnevno u tri centra (11 uzoraka x 2 operatera x 5 dana x 3 replikata x 3 centra). U studiju je bila uključena jedna serija Xpert MRSA/SA BC reagenasa.

Xpert MRSA/SA Blood Culture testovi su izvedeni u skladu sa procedurom za Xpert MRSA/SA Blood Culture. Stopa poklapanja za svakog člana panela predstavljena je u Tabeli 7.

Tabela 7. Sažetak rezultata reproducibilnosti – Poklapanje po studijskom centru/instrumentu

Uzorak	Centar 1/ GX Dx	Centar 2 Inf-80	Centar 3 Inf-48	% ukupnog poklapanja
MRSA-1 visoko neg. (ispod LOD)	56,7% (17/30)	60,0% (18/30)	66,7% (20/30)	61,1% (55/90)
MRSA-1 nisko poz. (~1X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA-1 umereno poz. (~2-3X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (29/29)	100,0% (89/89) ^a
MRSA-2 visoko neg. (ispod LOD)	43,3% (13/30)	53,3% (16/30)	70,0% (21/30)	55,6% (50/90)
MRSA-2 nisko poz. (~1X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA-2 umereno poz. (~2-3X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MSSA visoko neg. (ispod LOD)	60,0% (18/30)	48,3% (14/29)	70,0% (21/30)	59,6% (53/89) ^b
MSSA nisko poz. (~1X LOD)	96,7% (29/30)	100,0% (30/30)	96,7% (29/30)	97,8% (88/90)
MSSA umereno poz. (~2-3X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativno-1	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativno-2	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)

^a Jedan uzorak je bio neodređen nakon prvog i ponovnog testiranja.

^b Jedan uzorak greškom nije obrađen.

Reproducibilnost Xpert MRSA/SA Blood Culture testa je takođe procenjena u smislu signala fluorescencije izraženog u vrednostima praga ciklusa (Ct) za svaki detektovani cilj. Srednja, standardna devijacija (SD) i koeficijent varijacije (CV) između centara, između serija, između dana i između ciklusa za svakog člana panela, prikazani su u Tabeli 8.

Tabela 8. Sažetak podataka reproducibilnosti

Cilj	Uzorak	Konc.	Poklap./ Broj	Poklap. (%)	Srednja Ct	Između instrumenata		Između dana		Između ciklusa ^a		Unutar ciklusa		Ukupno	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
spa	MRSA-1	visoko neg.	55/90	61,1	35,6	0,18	0,5	0,21	0,6	0,00	0,0	0,95	2,7	0,99	2,8
	MRSA-1	nisko poz.	90/90	100,0	32,8	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,62	1,9	0,67	2,1
	MRSA-1	umereno poz.	89/89	100,0	31,2	0,11	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,58	1,9	0,59	1,9
	MRSA-2	visoko neg.	50/90	55,6	35,3	0,15	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,99	2,8	1,00	2,8
	MRSA-2	nisko poz.	90/90	100,0	32,3	0,11	0,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,63	1,9	0,65	2,0

Cilj	Uzorak	Konc.	Poklap./ Broj	Poklap. (%)	Srednja Ct	Između instrumenata		Između dana		Između ciklusa ^a		Unutar ciklusa		Ukupno		
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	
	MRSA-2	umereno poz.	90/90	100,0	30,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,8	0,55	1,8	
	MSSA	visoko neg.	53/89	59,6	36,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,26	3,5	1,26	3,5	
	MSSA	nisko poz.	88/90	97,8	33,5	0,07	0,2	0,18	0,5	0,00	0,0	0,89	2,7	0,91	2,7	
	MSSA	umereno poz.	90/90	100,0	31,7	0,08	0,2	0,20	0,6	0,17	0,6	0,48	1,5	0,56	1,8	
	NEG-1	Neg.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	NEG-2	Neg.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
mec	MRSA-1	visoko neg.	55/90	61,1	35,8	0,00	0,0	0,36	1,0	0,00	0,0	0,83	2,3	0,91	2,5	
	MRSA-1	nisko poz.	90/90	100,0	33,4	0,12	0,4	0,19	0,6	0,00	0,0	0,55	1,6	0,59	1,8	
	MRSA-1	umereno poz.	89/89	100,0	31,9	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,46	1,4	0,47	1,5	
	MRSA-2	visoko neg.	50/90	55,6	35,8	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	1,03	2,9	1,08	3,0	
	MRSA-2	nisko poz.	90/90	100,0	32,8	0,11	0,3	0,00	0,0	0,16	0,5	0,51	1,6	0,54	1,7	
	MRSA-2	umereno poz.	90/90	100,0	31,5	0,00	0,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,49	1,5	0,51	1,6	
	MSSA	visoko neg.	53/89	59,6	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	MSSA	nisko poz.	88/90	97,8	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	MSSA	umereno poz.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	NEG-1	Neg.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	NEG-2	Neg.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
SCC	MRSA-1	visoko neg.	55/90	61,1	37,2	0,20	0,5	0,37	1,0	0,35	1,0	0,82	2,2	0,98	2,6	
	MRSA-1	nisko poz.	90/90	100,0	34,5	0,19	0,5	0,23	0,7	0,00	0,0	0,59	1,7	0,66	1,9	
	MRSA-1	umereno poz.	89/89	100,0	33,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,45	1,4	0,48	1,5	
	MRSA-2	visoko neg.	50/90	55,6	36,8	0,23	0,6	0,24	0,6	0,10	0,3	1,00	2,7	1,06	2,9	
	MRSA-2	nisko poz.	90/90	100,0	33,7	0,11	0,3	0,00	0,0	0,26	0,8	0,57	1,7	0,64	1,9	
	MRSA-2	umereno poz.	90/90	100,0	32,4	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,45	1,4	0,46	1,4	
	MSSA	visoko neg.	53/89	59,6	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	MSSA	nisko poz.	88/90	97,8	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	MSSA	umereno poz.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	NEG-1	Neg.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	NEG-2	Neg.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
SPC	MRSA-1	visoko neg.	55/90	61,1	32,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,20	0,6	0,65	2,0	0,68	2,1	
	MRSA-1	nisko poz.	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,16	0,5	0,10	0,3	0,61	1,8	0,63	1,9	
	MRSA-1	umereno poz.	89/89	100,0	33,0	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,83	2,5	0,87	2,6	

Cilj	Uzorak	Konc.	Poklap./ Broj	Poklap. (%)	Srednja Ct	Između instrumenata		Između dana		Između ciklusa ^a		Unutar ciklusa		Ukupno	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
	MRSA-2	visoko neg.	50/90	55,6	33,1	0,23	0,7	0,00	0,0	0,10	0,3	0,85	2,6	0,89	2,7
	MRSA-2	nisko poz.	90/90	100,0	32,9	0,15	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,4	0,79	2,4
	MRSA-2	umereno poz.	90/90	100,0	32,8	0,00	0,0	0,23	0,7	0,00	0,0	0,66	2,0	0,70	2,1
	MSSA	visoko neg.	53/89	59,6	32,8	0,18	0,5	0,15	0,5	0,00	0,0	0,74	2,2	0,77	2,4
	MSSA	nisko poz.	88/90	97,8	32,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,72	2,2	0,72	2,2
	MSSA	umereno poz.	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,31	0,9	0,00	0,0	0,69	2,1	0,76	2,3
	NEG-1	Neg.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	NEG-2	Neg.	90/90	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Poklap.=poklapanje, Konc.=koncentracija, CV=koeficijent varijacije, N/A=nije primenjivo za negativne uzorke, SD=standardna devijacija.															

^a Ciklus se definiše kao tri uzorka po članu panela koje obrađuje jedan operater u jednom centru u toku jednog dana.

Напомена

Procena varijanse nekih faktora može biti numerički negativna, što se može dogoditi ako je varijabilnost usled tih faktora veoma mala. Kada se ovo dogodi, varijabilnost se meri pomoću SD i CV koji su podešeni na 0.

18 Studija preciznosti sistema instrumenata

Sprovedena je interna studija preciznosti kako bi se uporedile performanse GeneXpert Dx, Infinity-48 i Infinity-80 sistema instrumenata, pomoću uzoraka koji su se sastojali od kultivisanog matriksa dodatog u simulirani matriks. Uzorci su pripremljeni pri nivoima koncentracija koje su predstavljale visoko negativne (ispod LoD), nisko pozitivne (~1X LoD) i umereno pozitivne (~2-3X LoD) koncentracije za MRSA i MSSA. Korišćena su dva različita soja MRSA. Bili su uključeni i članovi negativnog panela i sastojali su se od *Staphylococcus epidermidis* dodatog u simulirani matriks. Testiran je panel od 11 uzorka u toku 12 različitih dana od strane dva različita operatera, četiri puta dnevno po instrumentu (11 uzoraka x 2 operatera x 12 dana x 4 replikata dnevno x 3 instrumenta). U studiju je bila uključena jedna serija Xpert MRSA/SA BC reagenasa. Xpert MRSA/SA Blood Culture testovi su izvedeni u skladu sa procedurom za Xpert MRSA/SA Blood Culture test. Stopa poklapanja za svakog člana panela predstavljena je u Tabeli 9.

Tabela 9. Sažetak rezultata preciznosti – Poklapanje po instrumentu

Uzorak	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% ukupnog poklapanja
MRSA-1 visoko neg. (ispod LOD)	50,0% (48/96)	51,6% (49/95)	35,4% (34/96)	45,6% (131/287) ^a
MRSA-1 nisko poz. (~1X LOD)	96,9% (93/96)	99,0% (95/96)	99,0% (95/96)	98,3% (283/288)
MRSA-1 umereno poz. (~2-3X LOD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	99,0% (95/96)	99,7% (287/288)
MRSA-2 visoko neg. (ispod LOD)	80,2% (77/96)	78,1% (75/96)	80,2% (77/96)	79,5% (229/288)
MRSA-2 nisko poz. (~1X LOD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)

Uzorak	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% ukupnog poklapanja
MRSA-2 umereno poz. (~2-3X LOD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	99,0% (95/96)	99,7% (287/288)
MSSA visoko neg. (ispod LOD)	76,0% (73/96)	71,9% (69/96)	81,3% (78/96)	76,4% (220/288)
MSSA nisko poz. (~1X LOD)	96,9% (93/96)	99,0% (95/96)	100,0% (96/96)	98,6% (284/288)
MSSA umereno poz. (~2-3X LOD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
Negativno-1	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
Negativno-2	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)

^a Jedan uzorak je bio neodređen nakon prvog i ponovnog testiranja.

Rezultati studije preciznosti takođe su procenjeni u smislu signala fluorescencije izraženog u Ct vrednostima za svaki detektovani cilj. Srednja, standardna devijacija (SD) i koeficijent varijacije (CV) između instrumenata, između dana i između ciklusa za svakog člana panela, prikazani su u Tabeli 10.

Tabela 10. Sažetak podataka o preciznosti

Cilj	Uzorak	Konc.	Poklap./ Broj	Poklap. (%)	Srednja Ct	Između instrumenata		Između dana		Između ciklusa ^a		Unutar ciklusa		Ukupno	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
spa	MRSA-1	visoko neg.	131/287	45,6	34,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,09	3,2	1,09	3,2
	MRSA-1	nisko poz.	283/288	98,3	32,9	0,02	0,1	0,16	0,5	0,00	0,0	0,78	2,4	0,80	2,4
	MRSA-1	umereno poz.	287/288	99,7	32,0	0,06	0,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,62	1,9	0,63	2,0
	MRSA-2	visoko neg.	229/288	79,5	36,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	1,19	3,3	1,35	3,7
	MRSA-2	nisko poz.	288/288	100,0	32,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,57	1,8	0,62	1,9
	MRSA-2	umereno poz.	287/288	99,7	31,1	0,12	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,6	0,51	1,7
	MSSA	visoko neg.	220/288	76,4	36,4	0,21	0,6	0,00	0,0	0,00	0,0	1,36	3,7	1,59	4,4
	MSSA	nisko poz.	284/288	98,6	33,8	0,09	0,3	0,18	0,5	0,00	0,0	0,87	2,6	0,90	2,7
	MSSA	umereno poz.	288/288	100,0	32,2	0,08	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,70	2,2	0,74	2,3
	NEG-1	Neg.	288/288	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
NEG-2	Neg.	288/288	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
mec	MRSA-1	visoko neg.	131/287	45,6	34,5	0,00	0,0	0,11	0,3	0,00	0,0	0,86	2,5	0,87	2,5

Cilj	Uzorak	Konc.	Poklap./ Broj	Poklap. (%)	Srednja Ct	Između instrumenata		Između dana		Između ciklusa ^a		Unutar ciklusa		Ukupno		
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	
	MRSA-1	nisko poz.	283/288	98,3	33,4	0,07	0,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,61	1,8	0,63	1,9	
	MRSA-1	umeren poz.	287/288	99,7	32,5	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,7	0,56	1,7	
	MRSA-2	visoko neg.	229/288	79,5	35,9	0,00	0,0	0,28	0,8	0,00	0,0	1,02	2,8	1,06	2,9	
	MRSA-2	nisko poz.	288/288	100,0	32,8	0,06	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,5	0,53	1,6	
	MRSA-2	umeren poz.	287/288	99,7	31,5	0,14	0,5	0,05	0,2	0,00	0,0	0,45	1,4	0,47	1,5	
	MSSA	visoko neg.	220/288	76,4	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	MSSA	nisko poz.	284/288	98,6	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	MSSA	umeren poz.	288/288	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	NEG-1	Neg.	288/288	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	NEG-2	Neg.	288/288	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
SCC	MRSA-1	visoko neg.	131/287	45,6	36,7	0,18	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,51	4,1	1,52	4,1	
	MRSA-1	nisko poz.	283/288	98,3	34,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	1,11	3,2	1,13	3,2	
	MRSA-1	umeren poz.	287/288	99,7	33,7	0,12	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,3	0,78	2,3	
	MRSA-2	visoko neg.	229/288	79,5	37,3	0,00	0,0	0,32	0,8	0,00	0,0	1,03	2,8	1,17	3,1	
	MRSA-2	nisko poz.	288/288	100,0	34,2	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,44	1,3	0,50	1,5	
	MRSA-2	umeren poz.	287/288	99,7	33,0	0,12	0,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,49	1,5	0,50	1,5	
	MSSA	visoko neg.	220/288	76,4	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	MSSA	nisko poz.	284/288	98,6	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	MSSA	umeren poz.	288/288	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	NEG-1	Neg.	288/288	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
NEG-2	Neg.	288/288	100,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
SPC	MRSA-1	visoko neg.	131/287	45,6	33,4	0,00	0,0	0,17	0,5	0,00	0,0	0,84	2,5	0,86	2,6	
	MRSA-1	nisko poz.	283/288	98,3	33,4	0,10	0,3	0,21	0,6	0,00	0,0	0,77	2,3	0,80	2,4	
	MRSA-1	umeren poz.	287/288	99,7	33,4	0,08	0,2	0,15	0,5	0,00	0,0	0,72	2,2	0,74	2,2	
	MRSA-2	visoko neg.	229/288	79,5	33,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,82	2,4	0,82	2,4	
	MRSA-2	nisko poz.	288/288	100,0	33,4	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,73	2,2	0,77	2,3	
	MRSA-2	umeren poz.	287/288	99,7	33,3	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,74	2,2	0,75	2,2	

Cilj	Uzorak	Konc.	Poklap./ Broj	Poklap. (%)	Srednja Ct	Između instrumenata		Između dana		Između ciklusa ^a		Unutar ciklusa		Ukupno	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
	MSSA	visoko neg.	220/288	76,4	33,4	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	0,83	2,5	0,85	2,6
	MSSA	nisko poz.	284/288	98,6	33,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,86	2,6	0,87	2,6
	MSSA	umereno poz.	288/288	100,0	33,1	0,11	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	2,2	0,77	2,3
	NEG-1	Neg.	288/288	100,0	33,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,00	0,0	0,85	2,6	0,87	2,6
	NEG-2	Neg.	288/288	100,0	33,5	0,00	0,0	0,02	0,1	0,00	0,0	0,84	2,5	0,84	2,5
Poklap.=poklapanje, Konc.=koncentracija, CV=koeficijent varijacije, N/A=nije primenjivo za negativne uzorke, SD=standardna devijacija.															

^a Ciklus se definiše kao četiri uzorka po članu panela koje obrađuje jedan operater u jednom centru u toku jednog dana.

Напомена

Procena varijanse nekih faktora može biti numerički negativna, što se može dogoditi ako je varijabilnost usled tih faktora veoma mala. Kada se ovo dogodi, varijabilnost se meri pomoću SD i CV koji su podešeni na 0.

19 Reference

1. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollack DA, Fridkin SK. 2008. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections; annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008 Nov; 29(11):996-1011. doi: 10.1086/591861. Erratum in: *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009 Jan; 30(1):107
2. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *JAMA.* 282(19):1745-51
3. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases.* 7(2):323-6.
4. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. *Cleveland Clinic J Med.* 72 (3): 235-241.
5. Das I, O'Connell N, Lambert P. 2007. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. *J Hosp Infect.* 65(2): 117-123.
6. Anderson DJ *et al.* 2009. Clinical and Financial Outcomes Due to Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Surgical Site Infection: A Multi-Center Matched Outcomes Study. *PLoS ONE* 4(12): e8305. doi:10.1371/journal.pone.0008305.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (pogledajte poslednje izdanje). U.S. Department of Health and Human Services.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. CLSI Document M29 (pogledajte poslednje izdanje). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
9. Chartier Y, et al. Safe management of wastes from health care activities. *Bulletin of the World Health Organization* (pogledajte poslednje izdanje).
10. UREDBA (EZ) br. 1272/2008 Evropskog parlamenta i saveta od 16. decembra 2008. o klasifikaciji, označavanju i pakovanju supstanci i smeša koje menja i ukida Listu izjava o predostrožnosti, Direktive 67/548/EEZ i 1999/45/EZ i izmena Uredbe (EZ) br. 1907/2006.
11. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
12. CLSI M2-A11. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Eleventh Edition. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
13. CLSI M100-S22. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-second Informational Supplement, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
14. Cooper, J E, Feil, E J. 2006. The phylogeny of *Staphylococcus aureus* – which genes make the best intra-species markers? *Microbiology* 152:1297–1305.

20 Lokacije sedišta kompanije Cepheid

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

21 Tehnička pomoć

Prikupite sledeće informacije pre nego što se obratite tehničkoj podršci kompanije Cepheid:

- Naziv proizvoda
- Broj serije
- Serijski broj instrumenta
- Poruke o greškama (ako ih ima)
- Verzija softvera i ako je primenljivo, broj servisne oznake računara

Sjedinjene Države


















Telefon: + 1 888 838 3222 Adresa e-pošte: techsupport@cepheid.com

Francuska

Telefon: + 33 563 825 319 Adresa e-pošte: support@cepheideurope.com

Informacije za kontakt sa svim kancelarijama službe tehničke podrške kompanije Cepheid dostupne su na našem veb-sajtu:
www.cepheid.com/en/support/contact-us

22 Tabela simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	Medicinsko sredstvo za <i>in vitro</i> dijagnostiku
	Ne koristiti ponovo
	Kôd partije
	CE oznaka – Evropska usklađenost
	Pogledajte uputstva za upotrebu
	Oprez
	Proizvođač
	Zemlja proizvodnje
	Sadrži dovoljno za <i>n</i> testova
	Kontrola
	Rok trajanja
	Ograničenje temperature
	Biološki rizici
	Upozorenje
	Ovlašćeni predstavnik u Švajcarskoj
	Uvoznik



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



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



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



23 Istorija revizija

Odeljak	Opis promene
Tabela simbola	Dodati simboli za CH REP i uvoznika i definicije u tabeli simbola. Dodate informacije o CH REP i uvozniku sa adresom u Švajcarskoj.
Istorija revizija	Tabela sa istorijom revizija je ažurirana.