

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.

Declarații privind mărci comerciale, brevete și drepturi de autor

Cepheid[®], sigla Cepheid, GeneXpert[®] și Xpert[®] sunt mărci comerciale ale Cepheid.

Remel[™] este o marcă comercială a Remel.

BBL[™] și Sensi-Disc[™] sunt mărci comerciale ale Becton Dickinson.

Windows[®] este o marcă comercială a Microsoft Corporation.

ACHIZIȚIA ACESTUI PRODUS TRANSMITE CUMPĂRĂTORULUI DREPTUL NETRANSFERABIL DE A-L UTILIZA ÎN CONFORMITATE CU ACEST PROSPECT. NICIUN FEL DE ALTE DREPTURI NU SUNT TRANSMISE ÎN MOD EXPRES, ÎN MOD IMPLICIT SAU PRIN ÎMPIEDICAREA INTENTĂRII UNEI ACȚIUNI. MAI MULT, NICIUN DREPT DE REVÂNZARE NU SE CONFERĂ ÎMPREUNĂ CU ACHIZIȚIA ACESTUI PRODUS.

Copyright © Cepheid 2018-2023. Toate drepturile rezervate.



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



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

Xpert[®] Carba-R

Utilizare numai pentru diagnosticare *In Vitro*.

1 Denumire brevetată

Xpert[®] Carba-R

2 Denumire comună sau obișnuită

Carba-R Testul Xpert

3 Utilizarea preconizată a dispozitivului

Testul Xpert Carba-R, efectuat pe Sistemele instrumentului GeneXpert[®], este un test calitativ de diagnosticare *in vitro* conceput pentru detectarea și diferențierea secvențelor genice *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48}, și *bla*_{IMP} asociate cu nesusceptibilitatea la carbapenem. Testul utilizează reacția de polimerază în lanț automatizată în timp real (PCR).

Testul Xpert Carba-R este conceput ca un ajutor pentru controlul infecțiilor în detectarea bacteriilor care nu sunt susceptibile la carbapenem și care colonizează pacienții în medii medicale. Un rezultat negativ al testului Xpert Carba-R nu exclude prezența altor mecanisme de rezistență.

Testul Xpert Carba-R este destinat utilizării cu următoarele tipuri de probe:

Colonii pure

Testul se efectuează pe colonii pure nesusceptibile la carbapenem de *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* sau *Pseudomonas aeruginosa*, atunci când sunt cultivate pe agar din sânge sau agar MacConkey. Pentru testarea coloniilor pure, testul Xpert Carba-R trebuie utilizat împreună cu alte teste de laborator, inclusiv testele de susceptibilitate antimicrobiană fenotipică.

Identificarea unei gene de metalo-beta-lactamază *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, sau *bla*_{VIM} (adică, genele care codifică metalo-beta-lactamazele IMP, NDM și, respectiv, VIM) poate fi utilizată ca un ajutor pentru clinicieni în stabilirea strategiilor terapeutice adecvate pentru pacienții cu infecții bacteriene nesusceptibile la carbapenem cunoscute sau suspectate.

Specimene de tampon rectal și perirectal

Testul se efectuează pe specimene de tampon rectal și perirectal de la pacienți cu risc de colonizare intestinală cu bacterii nesusceptibile la carbapenem. Culturile concomitente sunt necesare pentru recuperarea organismelor pentru genotiparea epidemiologică, testarea susceptibilității antimicrobiene și identificarea ulterioară a bacteriilor de confirmare.

Atunci când este efectuat pe specimene de tampon rectal și perirectal, testul Xpert Carba-R, nu este destinat să ghideze sau să monitorizeze tratamentul infecțiilor bacteriene nesusceptibile la carbapenem sau să determine infecția cu bacterii nesusceptibile la carbapenem.

4 Rezumat și explicații

Răspândirea globală a speciilor de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter* producătoare de carbapenemaze (adică, organisme nesusceptibile la carbapenem, CNSO) este o problemă medicală și de sănătate publică critică.^{1,2} Aceste bacterii sunt adesea rezistente la toți agenții beta-lactamici și sunt frecvent co-rezistenți la mai multe clase de alți agenți antimicrobieni, lăsând foarte puține opțiuni de tratament.³ Urmărirea răspândirii CNSO este complicată de diversitatea enzimelor hidrolizante carbapenemice care au apărut și de capacitatea genelor de a se răspândi printre mai multe specii bacteriene. Câteva dintre genele de rezistență, cum ar fi determinanții carbapenemazici (KPC) *Klebsiella pneumoniae*, sunt asociați cu linii clonale de succes de bacterii (de exemplu, *K. pneumoniae* ST258),⁴ care au un avantaj selectiv în medii spitalicești unde utilizarea antimicrobiană este mare. Oportunitățile de transmitere a organismelor sunt deseori frecvente, cu diseminarea în continuare a genelor de rezistență prin plasmide transmisibile și integroni. Tulpina ST258 de *K. pneumoniae* a provocat mai multe epidemii la nivel global, în special în Statele Unite¹ și Israel.⁵ În mod similar, organismele care conțin gena care codifică metalo-beta-lactamaza (NDM) din New Delhi au fost introduse în Europa de indivizi care, în multe cazuri, au vizitat India sau Pakistanul.⁶ Un al treilea mecanism de rezistență la carbapenem, mediat de metalo-beta-lactamaza (VIM) mediată de integronul Verona, reprezintă o preocupare în Europa de câțiva ani. Alte metalobeta-lactamaze, precum cele din clasa imipenemazei (IMP), au fost recunoscute în Japonia și în alte țări asiatice de mulți ani și se răspândesc acum la nivel global.³ În plus, oxacilina din clasa D, OXA-48, care mediază adesea rezistența la carbapenem de nivel scăzut, se răspândește acum rapid în Europa.^{7,8}

În prezent, metoda standard de detectare a pacienților care sunt colonizați cu organisme nesusceptibile la carbapenem este cultivarea probelor de tampon rectal sau perirectal pe plăci de agar selective gram-negative, cum ar fi agar MacConkey, urmată de testarea susceptibilității antimicrobiene a coloniilor de fermentare a lactozei sau prin utilizarea mediilor de agar de screening selective.⁹ Prima este laborioasă și poate necesita câteva zile pentru a genera un rezultat final, în timp ce cea de-a doua abordare variază considerabil în sensibilitate și specificitate în funcție de mediul selectiv utilizat.

O metodă rapidă și precisă de a determina dacă un specimen de tampon rectal sau perirectal sau un izolat bacterian nesusceptibil la carbapenem adăpostește una dintre aceste 5 clase comune de gene de rezistență la carbapenem ar fi un ajutor semnificativ pentru programele de control al infecțiilor, în special în timpul focarelor, deoarece are potențialul: 1) de a identifica gena de rezistență specifică prezentă în organism și 2) de a diferenția organismele respective cu cele mai comune gene de rezistență la carbapenem transmisibile care codifică enzimele carbapenemazei de organisme rezistente din cauza altor beta-lactamaze și/sau modificări ale peretelui celular al organismului, care poate să nu necesite neapărat luarea de către pacient a unor măsuri de precauție de contact.

Provocările terapeutice asociate cu Enterobacteriaceae rezistentă la carbapenem au creat un nivel de conștientizare sporit cu privire la necesitatea unei detectări rapide și a punerii în aplicare a unor măsuri eficiente pentru prevenirea izolării și transmiterii. Agenții antimicrobieni, cum ar fi noile combinații de inhibitori beta-lactamici/beta-lactamazici, au o activitate variabilă împotriva bacteriilor care produc diferite tipuri de beta-lactamaze. Rezultatele Xpert Carba-R care arată prezența genelor de metalo-beta-lactamază *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, și *bla*_{NDM} în coloniile pure ale organismelor revendicate pot fi utile în determinarea unei strategii terapeutice care include combinații de beta-lactam/beta-lactamază.^{10,11,12,13,14}

5 Principiul procedurii

Sistemele instrumentului GeneXpert automatizează și integrează prepararea probelor, extracția și amplificarea acidului nucleic și detectarea secvenței țintă din probele simple sau complexe utilizând analizele PCR în timp real. Sistemele constau dintr-un instrument, un computer personal și software preîncărcat pentru efectuarea testelor și vizualizarea rezultatelor. Sistemele necesită utilizarea de cartușe de unică folosință care conțin reactivi PCR și găzduiesc procesele PCR. Deoarece cartușele sunt autonome, contaminarea încrucișată între probe este minimizată. Pentru o descriere completă a sistemului, consultați *Manualul de utilizare a sistemului GeneXpert Dx* sau *Manualul de utilizare a sistemului GeneXpert Infinity*.

Testul Xpert Carba-R include reactivi pentru detectarea secvențelor genice *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} și *bla*_{IMP}, precum și un control de procesare a probelor (SPC) pentru a controla procesarea adecvată a bacteriilor țintă și pentru a indica prezența inhibitorului (inhibitorilor) în reacția PCR. SPC se asigură, de asemenea, că condițiile de reacție PCR (temperatura și timpul) sunt adecvate pentru reacția de amplificare și că reactivii PCR sunt funcționali. Un control intern suplimentar, controlul verificării sondei (PCC), verifică rehidratarea reactivului, umplerea eprubetei PCR în cartuș, integritatea sondei și stabilitatea colorantului.

Amorsele și sondele din testul Xpert Carba-R detectează secvențe proprietare pentru secvențele genice *bla*_{KPC} (KPC), *bla*_{NDM} (NDM), *bla*_{VIM} (VIM), *bla*_{OXA-48} (OXA-48) și *bla*_{IMP} (IMP) asociate cu nesusceptibilitatea la carbapenem în bacteriile gram-negative.

6 Reactivi și instrumente

6.1 Materiale furnizate



Trusa testului Xpert Carba-R (GXCARBARP-CE-10) conține reactivi suficienți pentru procesarea a 10 probe, iar trusa testului Xpert Carba-R (GXCARBARP-CE-120) conține reactivi suficienți pentru procesarea a 120 de probe. Trusele conțin următoarele:

Cartușe pentru analiza Xpert Carba-R TV cu eprubete de reacție integrate

	10	120
• Picătura 1, Picătura 2 și Picătura 3 (liofilizate)	1 din fiecare per cartuș	1 din fiecare per cartuș
• Reactiv 1	3 ml per cartuș	3 ml per cartuș
• Reactiv 2 (clorură de guanidiniu)	2,5 ml per cartuș	2,5 ml per cartuș

Flacoane cu reactiv pentru probă test Xpert Carba-R

	10	120
• Reactiv pentru probă	5,0 ml per flacon	5,0 ml per flacon

Pipete de transfer de unică folosință (1,7 ml)

	10	120
--	-----------	------------

CD

	1	1
• Fișiere de definiție a analizei (ADF)		
• Instrucțiuni de importare a ADF în software-ul		
• Instrucțiuni de utilizare (Prospect)		

Notă

Fișele cu date de securitate (FDS) sunt disponibile la www.cepheid.com sau www.cepheidinternational.com în fila **ASISTENȚĂ (SUPPORT)**.

Notă

Albumina serică bovină (BSA) din picăturile din cadrul acestui produs a fost produsă și fabricată exclusiv din plasma bovină provenită din Statele Unite. Nicio proteină de la animale rumegătoare sau proteină de la alt animal nu a fost oferită ca hrană animalelor; animalele au trecut testarea ante- și post-mortem. În timpul procesării, nu s-a amestecat materialul cu alte materiale de origine animală.

6.2 Depozitare și manipulare

- Depozitați cartușele testului Xpert Carba-R la 2 - 28 °C.

- Nu deschideți capacul cartușului până când nu sunteți gata să efectuați testarea.



- Nu utilizați reactivi sau cartușe care au depășit data de expirare.

- Reactivul pentru probă este un lichid limpede, incolor. Nu utilizați reactivul pentru probă dacă a devenit tulbure sau s-a decolorat.

- Utilizați cartușul în decurs de 30 de minute după deschiderea capacului cartușului.

- Nu utilizați un cartuș care s-a scurs.

6.3 Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

- Instrument GeneXpert Dx sau sisteme GeneXpert Infinity (numărul de catalog variază în funcție de configurație): Instrumentul GeneXpert, computer, scanner de coduri de bare, manual de utilizare.

- Pentru sistemul GeneXpert Dx: Software-ul GeneXpert Dx versiunea 4.3 sau ulterioară

- Dispozitiv de colectare a probelor: Număr de catalog Cepheid 900-0370

- Agar din sânge (de ex., agar din sânge Remel™: Număr de catalog R01200 sau echivalent)

- Agar MacConkey (de ex., Agar MacConkey Remel™: Număr de catalog R01550 sau echivalent)

- Discuri de Meropenem de 10 µg (de ex., discuri de testare a susceptibilității antimicrobiene BD BBL™ Sensi-Disc™, Meropenem, număr de catalog 231704 sau echivalent)

- Pensă sterilă

- Bucle de inoculare sterile, de unică folosință, de 10 µl (de exemplu, Copan: Număr de catalog COPS-10 sau Hardy Diagnostics: Număr de catalog L2002A sau echivalent)

- Mixer centrifugațional

- Imprimantă: Dacă este necesară o imprimantă, contactați Asistența tehnică Cepheid pentru a lua măsuri pentru achiziționarea unei imprimante recomandate.

7 Avertizări și măsuri de precauție

- Utilizare pentru diagnosticare *in vitro*.

- Utilizare numai pe bază de prescripție.



- Tratați toate speciile biologice, inclusiv cartușele utilizate, ca și cum ar putea să transmită agenți infecțioși. Deoarece este adesea imposibil să se știe care ar putea fi infecțioase, toate speciile biologice trebuie tratate cu măsuri de precauție standard. Îndrumările pentru manipularea probelor sunt disponibile de la Centrele SUA pentru Controlul și Prevenirea Bolilor^{15, 16} și de la Institutul de Standarde Clinice și de Laborator (CLSI).¹⁷


- Urmați procedurile de siguranță ale instituției dumneavoastră pentru lucrul cu substanțe chimice și pentru manipularea probelor biologice/plăcilor de agar cu colonii pure.

- Speciile biologice, dispozitivele de transfer și cartușele utilizate trebuie să fie considerate că pot să transmită agenți infecțioși care necesită măsuri de precauție standard. Urmați procedurile instituției dumneavoastră privind eliminarea la deșeurii pentru eliminarea corespunzătoare a cartușelor utilizate și a reactivilor neutilizați. Aceste materiale pot prezenta caracteristici specifice deșeurilor chimice periculoase care necesită proceduri de eliminare naționale sau regionale specifice. În cazul în care reglementările naționale sau regionale nu oferă instrucțiuni clare privind eliminarea corespunzătoare, speciile biologice și cartușele utilizate trebuie eliminate la deșeurii conform îndrumărilor OMS [Organizația Mondială a Sănătății] privind manipularea și eliminarea deșeurilor medicale.

- Se recomandă urmarea unor bune practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipularea probelor pentru a evita contaminarea probelor sau a reactivilor.

- Nu înlocuiți reactivii pentru probă Xpert Carba-R cu alți reactivi.
- Nu deschideți capacul cartușului testului Xpert Carba-R până când nu sunteți gata să adăugați proba.
- Nu utilizați un cartuș care a fost scăpat după ce l-ați scos din ambalaj.
- Nu agitați cartușul. Agitarea sau scăparea cartușului după deschiderea capacului cartușului poate produce rezultate nevalide.
- Nu puneți eticheta cu ID-ul probei pe capacul cartușului sau peste eticheta cu codul de bare.
- ② • Fiecare cartuș de unică folosință al testului Xpert Carba-R este utilizat pentru a procesa un test. Nu reutilizați cartușele utilizate.
- Nu utilizați un cartuș care are o eprubetă de reacție deteriorată.
- Purtați halate și mănuși de laborator curate. Schimbați mănușile după procesarea fiecărei probe.
- În cazul contaminării zonei de lucru sau a echipamentului cu probe sau controale, curățați temeinic zona contaminată cu o soluție de diluție 1:10 de înălbitor cu clor menajer și apoi repetați curățarea zonei de lucru cu etanol 70%. Ștergeți suprafețele de lucru până când sunt uscate complet înainte de a continua.

8 Pericole chimice^{18, 19}

- Pictograma de pericol ONU GHS: 
- Cuvânt de semnal: ATENȚIE
- **Declarații de precauție ONU GHS**
 - **Măsuri de prevenire**
 - Spălați-vă bine după utilizare.
 - Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.
 - **Răspuns**
 - ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: Spălați cu multă apă și săpun.
 - Tratament specific, consultați informațiile privind măsurile suplimentare de prim ajutor.
 - Scoateți îmbrăcămintea contaminată și spălați-o înainte de reutilizare.
 - În caz de iritare a pielii: Consultați medicul/solicitați asistență medicală.
 - ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.
 - Dacă iritarea ochilor persistă: Consultați medicul/solicitați asistență medicală.
 - Sunați la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic, dacă nu vă simțiți bine.

9 Pregătirea și depozitarea probelor

Probe de tampon rectal și perirectal:

Pentru tampoanele care trebuie utilizate, consultați Secțiunea 6.3, Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate.

- Colectarea unui tampon rectal pereche: Introduceți cu atenție ambele vârfuri de tampon aproximativ 1 cm dincolo de sfîncterul anal și rotiți ușor. Consultați „Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate” pentru tampoanele care trebuie utilizate și Figura 1 și Figura 2 pentru exemple de tampoane acceptabile și inacceptabile pentru utilizare cu testul Xpert Carba-R.
- Colectarea unui tampon perirectal pereche: Introduceți cu atenție ambele vârfuri de tampon nu mai mult de 1 cm în deschiderea anală înainte de sfîncterul anal și rotiți ușor.
- Tampoanele din eprubeta de transport pot fi păstrate la 15 - 28 °C timp de până la 5 zile.
- Figura 1 de mai jos prezintă exemple de specimene de tampon acceptabile care trebuie utilizate cu testul Xpert Carba-R și Figura 2 prezintă exemple de specimene de tampon foarte murdare care nu trebuie utilizate cu testul Xpert Carba-R.





Figura 1. Exemple de specimene de tampon acceptabile pentru testarea Xpert Carba-R

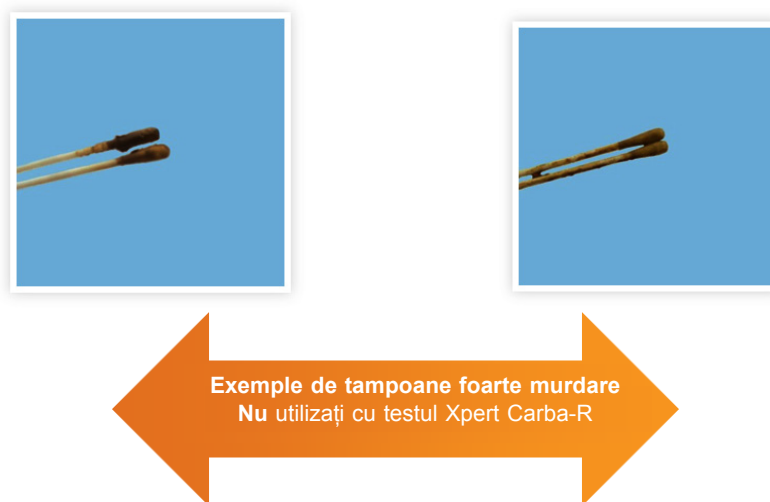


Figura 2. Exemple de specimene de tampon inacceptabile pentru testarea cu testul Xpert Carba-R

Izolate bacteriene:

1. Organismele trebuie identificate și starea de nesusceptibilitate la carbapenem trebuie determinată în conformitate cu prospectul curent al medicamentului aprobat de FDA și cu cea mai recentă versiune a îndrumărilor M100²⁰ ale CLSI înainte de testarea cu testul Xpert Carba-R.
2. Inoculați organismul fie pe o placă de agar din sânge, fie pe o placă de agar MacConkey, însămânțați pentru izolare și plasați un disc de meropenem de 10 µg în primul cadran de însămânțare pentru a vă asigura că izolatul își păstrează nesusceptibilitatea la carbapenem.
3. Incubați placa la 35 °C timp de 18-24 de ore în aer ambiant.
4. Utilizați metoda suspensiei directe a coloniilor atingând coloniile izolate cu un tampon sau o buclă pentru a pregăti o suspensie de 0,5 McFarland a izolatului bacterian, așa cum este subliniat în standardul aprobat M07 al CLSI²¹. Pașii sunt, de asemenea, descriși mai jos.
 - A. Realizați o suspensie de colonii izolate selectate dintr-o placă de agar (de exemplu, un mediu neselectiv, cum ar fi agar din sânge care a fost incubat timp de 18 ore până la 24 de ore) direct în bulion sau soluție salină.
 - B. Ajustați suspensia pentru a obține o turbiditate echivalentă cu un standard de 0,5 McFarland. Rezultă o suspensie care conține aproximativ 1 până la 2×10^8 CFU/ml pentru *E. coli* ATCC (Colecția americană de culturi tip) 25922.
 - C. Utilizați fie un dispozitiv fotometric, fie, dacă se efectuează vizual, utilizați o lumină adecvată pentru a compara tubul de inocul și standardul de 0,5 McFarland cu un card cu fundal alb și linii negre contrastante.

10 Procedură

10.1 Pregătirea cartușului

Important	Așezați cartușul în instrumentul GeneXpert în decurs de 30 de minute de la adăugarea probei în cartuș.
	<ol style="list-style-type: none"> Scoateți un cartuș de test Xpert Carba-R, un flacon cu reactiv pentru probă și o pipetă de transfer din trusă. Deschideți flaconul cu reactiv pentru probă. Pentru adăugarea probei la cartuș: <ul style="list-style-type: none"> Pentru probele de tampon rectal sau perirectal, pentru a adăuga proba de tampon în cartuș: <ul style="list-style-type: none"> Din tampoanele pereche, așezați un tampon în flaconul cu probă pentru reactiv. Reintroduceți tamponul neutilizat în eprubeta de transport și depozitați.
Notă	Consultați Secțiunea 9 pentru condițiile de depozitare a probelor de tampon rectal sau perirectal. Al doilea tampon rămas poate fi utilizat pentru repetarea testării.
Notă	Consultați Secțiunea 14, Procedura de retestare pentru repetarea testului pentru probele de tampon rectal sau perirectal. <ul style="list-style-type: none"> Țineți tamponul de tija, lângă marginea flaconului, ridicați tamponul câțiva milimetri de pe fundul flaconului și îndoiți tija peste marginea flaconului pentru a o rupe la marcaj, lăsând tamponul suficient de scurt pentru a permite acestuia să încapă în flacon și capacului să se închidă bine. Pentru izolatele bacteriene, pentru a adăuga suspensia de 0,5 McFarland a izolatului în cartuș: <ul style="list-style-type: none"> Centrifugați suspensia de 0,5 McFarland. Folosind o buclă de 10 μl, transferați 10 μl din suspensia de 0,5 McFarland într-un flacon de 5 ml cu reactiv pentru probă. Rotiți bucla de cel puțin 3 ori în reactivul pentru probă. După testul inițial, proba rămasă în flaconul cu reactiv pentru probă poate fi păstrată la 2 - 28 °C timp de până la 5 zile, dacă este necesară o nouă testare.
Notă	Consultați Secțiunea 14, Procedura de retestare pentru instrucțiuni despre cum să repetați testul pentru probele de izolat bacterian.
Notă	Asigurați-vă că bucla de 10 μl este umplută cu probă și că suspensia de probă din buclă nu explodează atunci când transferați suspensia de 0,5 McFarland în reactivul pentru probă.
	<ol style="list-style-type: none"> Închideți strâns capacul flaconului cu reactiv pentru probă și centrifugați la viteză mare timp de 10 secunde. Deschideți capacul cartușului. Deschideți capacul flaconului cu reactiv pentru probă. Folosind pipeta de transfer furnizată, aspirați proba pregătită (reactivul pentru probă care conține proba de la Pasul 2) până la marcajul de pe pipetă (care este de aproximativ 1,7 ml; consultați Figura 3) și apoi transferați materialul în deschiderea mare a compartimentului pentru probă (consultați Figura 4) a cartușului testului Xpert Carba-R. Închideți capacul cartușului și așezați cartușul în instrumentul GeneXpert în decurs de 30 de minute de la adăugarea probei în cartuș.

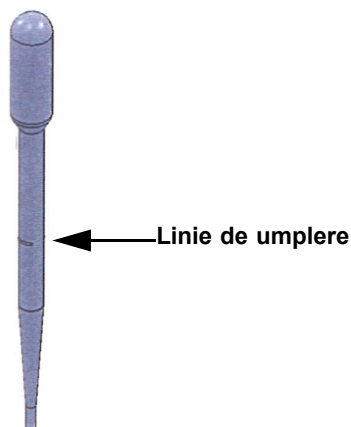


Figura 3. Pipetă de transfer pentru transferul probei în cartuș

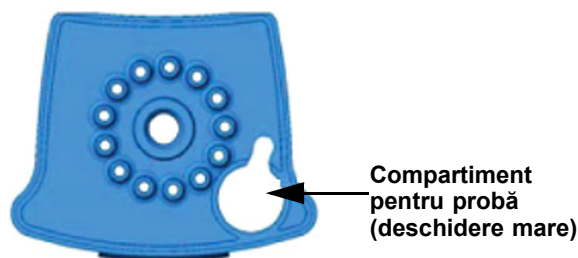


Figura 4. Cartușul testului Xpert Carba-R (vedere de sus)

10.2 Începerea testului

Important Înainte de începerea testului, asigurați-vă că Fișierul de definiție a analizei Xpert Carba-R este importat în software. Această secțiune enumeră pașii de bază pentru executarea testului. Pentru instrucțiuni detaliate, consultați *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Dx* sau *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Infinity*.

Notă Pașii de urmat pot fi diferiți în cazul în care administratorul sistemului a modificat fluxul de lucru implicit al sistemului. Fluxul de lucru implicit este descris mai jos.

1. Porniți sistemul instrumentului GeneXpert:
 - Dacă se utilizează instrumentul GeneXpert Dx, porniți mai întâi instrumentul și apoi porniți computerul. Software-ul GeneXpert se va lansa automat sau poate fi necesar să faceți dublu clic pe pictograma de comandă rapidă a software-ului GeneXpert Dx de pe desktopul Windows®.
 - sau
 - Dacă se utilizează instrumentul GeneXpert Infinity, porniți instrumentul. Software-ul Xpertise se va lansa automat sau poate fi necesar să faceți dublu clic pe pictograma de comandă rapidă a software-ului Xpertise de pe desktopul Windows.
2. Conectați-vă la software-ul sistemului instrumentului GeneXpert utilizând numele de utilizator și parola dumneavoastră.
3. În fereastra sistemului GeneXpert, faceți clic pe **Creare test (Create Test)** (GeneXpert Dx) sau pe **Comenzi (Orders)** și **Comandă test (Order Test)** (Infinity).
4. Scanați ID-ul pacientului (Patient ID) (opțional). Dacă tastați ID-ul pacientului (Patient ID), asigurați-vă că ID-ul pacientului (Patient ID) este tastat corect. ID-ul pacientului este asociat cu rezultatele testului și este afișat în fereastra Vizualizare rezultate (View Results).
5. Scanați sau tastați ID-ul probei (Sample ID). Dacă tastați ID-ul probei (Sample ID), asigurați-vă că ID-ul probei (Sample ID) este tastat corect. ID-ul probei (Sample ID) este asociat cu rezultatele testului și este afișat în fereastra Vizualizare rezultate (View Results).
6. Scanați codul de bare de pe cartușul analizei Xpert Carba-R. Utilizând informațiile despre codul de bare, software-ul umple automat casetele pentru următoarele câmpuri: Selectare analiză (Select Assay), ID lot reactiv (Reagent Lot ID), Nr. serie cartuș (Cartridge SN) și Data de expirare (Expiration Date).

Notă Dacă codul de bare de pe cartușul Xpert Carba-R nu se scanează, configurați un nou test urmând procedura de retestare din Secțiunea 14.

7. Faceți clic pe **Începere test (Start Test)** (GeneXpert Dx) sau pe **Trimitere (Submit)** (Infinity). Introduceți parola dumneavoastră, dacă vi se solicită.
8. Pentru sistemul GeneXpert Infinity, așezați cartușul pe banda transportoare. Cartușul va fi încărcat automat, testul va fi executat și cartușul utilizat va fi introdus în recipientul pentru deșeuri.

sau

Pentru instrumentul GeneXpert Dx:

- A. Deschideți ușa modulului instrumentului cu indicatorul luminos verde care luminează intermitent și încărcați cartușul.
- B. Închideți ușa. Testul începe și indicatorul luminos verde încetează să lumineze intermitent. Atunci când testul este finalizat, indicatorul luminos se stinge.
- C. Așteptați până când sistemul eliberează dispozitivul de blocare a ușii înainte de a deschide ușa modulului. Apoi îndepărtați cartușul.
- D. Cartușele utilizate trebuie eliminate în recipientul corespunzător pentru deșeuri de specimene, în conformitate cu practicile standard ale instituției dumneavoastră.

10.3 Vizualizarea și tipărirea rezultatelor

Această secțiune enumeră pașii de bază pentru vizualizarea și tipărirea rezultatelor. Pentru instrucțiuni mai detaliate privind modul de vizualizare și de tipărire a rezultatelor, consultați *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Dx* sau *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Infinity*.

1. Faceți clic pe pictograma **Vizualizare rezultate (View Results)** pentru a vizualiza rezultatele.
2. La finalizarea testului, faceți clic pe butonul Raport (Report) al ferestrei Vizualizare rezultate (View Results) pentru a vizualiza și/sau pentru a genera un fișier de raport PDF.

11 Controlul calității

CONTROL Controale ale calității încorporate

Fiecare test include un control al procesării probei și un control al verificării sondei.

- **Controlul procesării probei (SPC)**—Asigură că proba a fost procesată corect. SPC conține spori de *Bacillus globigii* sub forma unei picături uscate care este inclusă în fiecare cartuș pentru a verifica procesarea adecvată a probei. SPC verifică dacă liza bacteriilor a avut loc în cazul în care organismele sunt prezente și verifică dacă procesarea probei este adecvată. În plus, acest control detectează inhibarea asociată probei a analizei PCR în timp real, asigură adecvarea condițiilor reacției PCR (temperatura și timpul) pentru reacția de amplificare și că reactivii PCR sunt funcționali.

SPC trebuie să fie pozitiv într-o probă negativă și poate fi negativ sau pozitiv într-o probă pozitivă. SPC reușește dacă îndeplinește criteriile de acceptare validate.

- **Controlul de verificare a sondei (PCC)**—Înainte de începerea reacției PCR, sistemul GeneXpert măsoară semnalul de fluorescență de la sonde pentru a monitoriza rehidratarea picăturii, umplerea eprubetei de reacție, integritatea sondei și stabilitatea colorantului. Verificarea sondei este aprobată dacă satisface criteriile de acceptare alocate.

Controale externe

Controalele externe pot fi utilizate în conformitate cu organizațiile de acreditare locale, de stat și federale, după caz.

12 Interpretarea rezultatelor

Rezultatele sunt interpretate de sistemul GeneXpert din semnale fluorescente măsurate și algoritmi de calcul încorporați și vor fi afișate în fereastra Vizualizare rezultate (View Results). Capturile de ecran și interpretările pentru toate combinațiile posibile de rezultate cu cei 5 analiți țintă din analiza Xpert Carba-R nu sunt prezentate; cu toate acestea, următoarele exemple indică tipul de rezultate care pot fi așteptate.

Notă Tabelul și figurile următoare prezintă doar exemple reprezentative ale tipurilor de rezultate care pot fi așteptate cu analiza Xpert Carba-R. Nu sunt prezentate toate combinațiile posibile de rezultate cu cei 5 analiți țintă.

Tabelul 1. Rezultatele reprezentative ale analizei Xpert Carba-R și interpretare

Rezultat	Interpretare
IMP DETECTAT (IMP DETECTED); VIM NEDETECTAT (VIM NOT DETECTED); NDM NEDETECTAT (NDM NOT DETECTED); KPC NEDETECTAT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NEDETECTAT (OXA48 NOT DETECTED) Consultați Figura 5.	Se detectează secvența de ADN a țintei IMP; nu se detectează secvențe de ADN ale țintelor VIM, NDM, KPC și OXA-48. <ul style="list-style-type: none"> • Amplificarea PCR a ADN-ului țintei IMP generează o valoare Ct în intervalul valid și un punct final al fluorescenței peste setarea pragului; secvențele de ADN ale țintelor VIM, NDM, KPC și OXA-48 sunt absente sau sub nivelul de detectare a analizei. • SPC: Nu este cazul. SPC este ignorat deoarece amplificarea ADN-ului țintei IMP poate concura cu acest control. • PCC: REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit. • Strategiile terapeutice care includ agenți antimicrobieni, cum ar fi combinațiile de inhibitori beta-lactamici/beta-lactamazici, cu activitate limitată sau fără nicio activitate împotriva bacteriilor care produc metalo-beta-lactamaze, trebuie utilizate cu precauție. Rezultatele analizei Xpert Carba-R care arată prezența genelor de metalo-beta-lactamază <i>bla_{IMP}</i>, <i>bla_{VIM}</i> și <i>bla_{NDM}</i> din coloniile pure ale organismelor revendicate pot fi utile în determinarea unei strategii terapeutice la pacienții cu infecții bacteriene nesusceptibile la carbapenem cunoscute sau suspectate.

Tabelul 1. Rezultatele reprezentative ale analizei Xpert Carba-R și interpretare (Continuare)

Rezultat	Interpretare
IMP NEDETECTAT (IMP NOT DETECTED); VIM DETECTAT (VIM DETECTED); NDM NEDETECTAT (NDM NOT DETECTED); KPC NEDETECTAT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NEDETECTAT (OXA48 NOT DETECTED) Consultați Figura 6.	<p>Se detectează secvența de ADN a țintei VIM; nu se detectează secvențe de ADN ale țintelor IMP, NDM, KPC și OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> Amplificarea PCR a ADN-ului țintei VIM generează o valoare Ct în intervalul valid și un punct final al fluorescenței peste setarea pragului; secvențele de ADN ale țintelor IMP, NDM, KPC și OXA-48 sunt absente sau sub nivelul de detectare a testului. SPC: Nu este cazul. SPC este ignorat deoarece amplificarea ADN-ului țintei VIM poate concura cu acest control. PCC: REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit. Strategiile terapeutice care includ agenți antimicrobieni, cum ar fi combinațiile de inhibitori beta-lactamici/beta-lactamazici, cu activitate limitată sau fără nicio activitate împotriva bacteriilor care produc metalo-beta-lactamaze, trebuie utilizate cu precauție. Rezultatele analizei Xpert Carba-R care arată prezența genelor de metalo-beta-lactamază bla_{IMP}, bla_{VIM} și bla_{NDM} din coloniile pure ale organismelor revendicate pot fi utile în determinarea unei strategii terapeutice la pacienții cu infecții bacteriene nesusceptibile la carbapenem cunoscute sau suspectate.
IMP NEDETECTAT (IMP NOT DETECTED); VIM DETECTAT (VIM DETECTED); NDM DETECTAT (NDM DETECTED); KPC NEDETECTAT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NEDETECTAT (OXA48 NOT DETECTED) Consultați Figura 7.	<p>Se detectează secvențe de ADN ale țintelor VIM și NDM; nu se detectează secvențe de ADN ale țintelor IMP, KPC și OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> Amplificarea PCR a ADN-urilor țintelor VIM și NDM generează valori Ct în intervalele valide și puncte finale ale fluorescenței peste setările pragului; secvențele de ADN ale țintelor IMP, KPC și OXA-48 sunt absente sau sub nivelul de detectare a testului. SPC: Nu este cazul. SPC este ignorat deoarece amplificările ADN-ului țintelor VIM și NDM pot concura cu acest control. PCC: REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit. Strategiile terapeutice care includ agenți antimicrobieni, cum ar fi combinațiile de inhibitori beta-lactamici/beta-lactamazici, cu activitate limitată sau fără nicio activitate împotriva bacteriilor care produc metalo-beta-lactamaze, trebuie utilizate cu precauție. Rezultatele analizei Xpert Carba-R care arată prezența genelor de metalo-beta-lactamază bla_{IMP}, bla_{VIM} și bla_{NDM} din coloniile pure ale organismelor revendicate pot fi utile în determinarea unei strategii terapeutice la pacienții cu infecții bacteriene nesusceptibile la carbapenem cunoscute sau suspectate.
IMP DETECTAT (IMP DETECTED); VIM NEDETECTAT (VIM NOT DETECTED); NDM DETECTAT (NDM DETECTED); KPC NEDETECTAT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NEDETECTAT (OXA48 NOT DETECTED) Consultați Figura 8.	<p>Se detectează secvențe de ADN ale țintelor IMP și NDM; nu se detectează secvențe de ADN ale țintelor VIM, KPC și OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> Amplificarea PCR a ADN-urilor țintelor IMP și NDM generează valori Ct în intervalul valid și puncte finale ale fluorescenței peste setarea pragului; secvențele de ADN ale țintelor VIM, KPC și OXA-48 sunt absente sau sub nivelul de detectare a testului. SPC: Nu este cazul. SPC este ignorat deoarece amplificările ADN-ului țintelor IMP și NDM pot concura cu acest control. PCC: REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit. Strategiile terapeutice care includ agenți antimicrobieni, cum ar fi combinațiile de inhibitori beta-lactamici/beta-lactamazici, cu activitate limitată sau fără nicio activitate împotriva bacteriilor care produc metalo-beta-lactamaze, trebuie utilizate cu precauție. Rezultatele analizei Xpert Carba-R care arată prezența genelor de metalo-beta-lactamază bla_{IMP}, bla_{VIM} și bla_{NDM} din coloniile pure ale organismelor revendicate pot fi utile în determinarea unei strategii terapeutice la pacienții cu infecții bacteriene nesusceptibile la carbapenem cunoscute sau suspectate.

Tabelul 1. Rezultatele reprezentative ale analizei Xpert Carba-R și interpretare (Continuare)

Rezultat	Interpretare
IMP DETECTAT (IMP DETECTED); VIM DETECTAT (VIM DETECTED); NDM NEDETECTAT (NDM NOT DETECTED); KPC NEDETECTAT (KPC NOT DETECTED); OXA48 DETECTAT (OXA48 DETECTED) Consultați Figura 9.	Se detectează secvențe de ADN ale țintelor IMP, VIM și OXA-48; Nu se detectează secvențe de ADN ale țintelor NDM și KPC. <ul style="list-style-type: none"> Amplificarea PCR a ADN-urilor țintelor IMP, VIM și OXA-48 generează valori Ct în intervalul valid și puncte finale ale fluorescenței peste setarea pragului; secvențele de ADN ale țintelor KPC și NDM sunt absente sau sub nivelul de detectare a testului. SPC: Nu este cazul. SPC este ignorat deoarece amplificările ADN-ului țintelor IMP, VIM și OXA-48 pot concura cu acest control. PCC: REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit. Strategiile terapeutice care includ agenți antimicrobieni, cum ar fi combinațiile de inhibitori beta-lactamici/beta-lactamazici, cu activitate limitată sau fără nicio activitate împotriva bacteriilor care produc metalo-beta-lactamaze, trebuie utilizate cu precauție. Rezultatele analizei Xpert Carba-R care arată prezența genelor de metalo-beta-lactamază bla_{IMP}, bla_{VIM} și bla_{NDM} din coloniile pure ale organismelor revendicate pot fi utile în determinarea unei strategii terapeutice la pacienții cu infecții bacteriene nesusceptibile la carbapenem cunoscute sau suspectate.
IMP DETECTAT (IMP DETECTED); VIM DETECTAT (VIM DETECTED); NDM DETECTAT (NDM DETECTED); KPC NEDETECTAT (KPC NOT DETECTED); OXA48 DETECTAT (OXA48 DETECTED) Consultați Figura 10.	Se detectează secvențe de ADN ale țintelor IMP, VIM, NDM și OXA-48; nu se detectează secvența de ADN a țintei KPC. <ul style="list-style-type: none"> Amplificarea PCR a ADN-urilor țintelor IMP, VIM, NDM și OXA-48 generează valori Ct în intervalul valid și puncte finale ale fluorescenței peste setarea pragului; secvența de ADN a țintei KPC este absentă sau sub nivelul de detectare a testului. SPC: Nu este cazul. SPC este ignorat deoarece amplificările ADN-ului țintelor IMP, VIM, NDM și OXA-48 pot concura cu acest control. PCC: REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit. Strategiile terapeutice care includ agenți antimicrobieni, cum ar fi combinațiile de inhibitori beta-lactamici/beta-lactamazici, cu activitate limitată sau fără nicio activitate împotriva bacteriilor care produc metalo-beta-lactamaze, trebuie utilizate cu precauție. Rezultatele analizei Xpert Carba-R care arată prezența genelor de metalo-beta-lactamază bla_{IMP}, bla_{VIM} și bla_{NDM} din coloniile pure ale organismelor revendicate pot fi utile în determinarea unei strategii terapeutice la pacienții cu infecții bacteriene nesusceptibile la carbapenem cunoscute sau suspectate.
IMP DETECTAT (IMP DETECTED); VIM DETECTAT (VIM DETECTED); NDM DETECTAT (NDM DETECTED); KPC DETECTAT (KPC DETECTED); OXA48 DETECTAT (OXA48 DETECTED) Consultați Figura 11.	Se detectează secvențe de ADN ale țintelor IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 <ul style="list-style-type: none"> Amplificarea PCR a ADN-urilor țintelor IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 generează valori Ct în intervalul valid și puncte finale ale fluorescenței peste setarea pragului. SPC: Nu este cazul. SPC este ignorat deoarece amplificările ADN-ului țintelor IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 pot concura cu acest control. PCC: REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit. Strategiile terapeutice care includ agenți antimicrobieni, cum ar fi combinațiile de inhibitori beta-lactamici/beta-lactamazici, cu activitate limitată sau fără nicio activitate împotriva bacteriilor care produc metalo-beta-lactamaze, trebuie utilizate cu precauție. Rezultatele analizei Xpert Carba-R care arată prezența genelor de metalo-beta-lactamază bla_{IMP}, bla_{VIM} și bla_{NDM} din coloniile pure ale organismelor revendicate pot fi utile în determinarea unei strategii terapeutice la pacienții cu infecții bacteriene nesusceptibile la carbapenem cunoscute sau suspectate.

Tabelul 1. Rezultatele reprezentative ale analizei Xpert Carba-R și interpretare (Continuare)

Rezultat	Interpretare
IMP NEDETECTAT (IMP NOT DETECTED); VIM NEDETECTAT (VIM NOT DETECTED); NDM NEDETECTAT (NDM NOT DETECTED); KPC NEDETECTAT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NEDETECTAT (OXA48 NOT DETECTED) Consultați Figura 12.	Nu se detectează secvențe de ADN ale țintelor IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 <ul style="list-style-type: none"> • Secvențele de ADN ale țintelor IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 sunt absente sau sub nivelul de detectare a analizei. • SPC: REUȘITĂ (PASS); amplificarea PCR a secvenței de ADN a SPC generează o valoare Ct în intervalul valid și un punct final al fluorescenței peste setarea pragului. • PCC: REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
NEVALID (INVALID) Consultați Figura 13.	Prezența sau absența secvențelor de ADN ale țintelor IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 nu poate fi determinată. Utilizați instrucțiunile din Secțiunea 14, Procedura de retestare pentru a repeta testul. <ul style="list-style-type: none"> • SPC: FAIL (NEREUȘITĂ); nicio amplificare PCR a secvenței de ADN a SPC sau valoarea Ct a SPC nu este în intervalul valid și punctul final al fluorescenței este sub setarea pragului. • PCC: REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
EROARE (ERROR)	Prezența sau absența secvențelor de ADN ale țintelor IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 nu poate fi determinată. Utilizați instrucțiunile din Secțiunea 14, Procedura de retestare pentru a repeta testul. <ul style="list-style-type: none"> • SPC: FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) • PCC: NEREUȘITĂ (FAIL)*; una sau mai multe dintre rezultatele verificării sondei a/au eșuat. PCC a eșuat probabil deoarece eprubeta de reacție a fost umplută necorespunzător sau a fost detectată o problemă de integritate a sondei. * Dacă verificarea sondei a reușit, eroarea este cauzată de o defecțiune a unei componente a sistemului.
FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	Prezența sau absența secvențelor de ADN ale țintelor IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 nu poate fi determinată. Utilizați instrucțiunile din Secțiunea 14, Procedura de retestare pentru a repeta testul. Au fost colectate date insuficiente pentru a genera un rezultat al testului (de exemplu, operatorul a oprit un test în timp ce era în curs de desfășurare sau s-a produs o pană de curent). <ul style="list-style-type: none"> • SPC: FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) • PCC: Nu este cazul

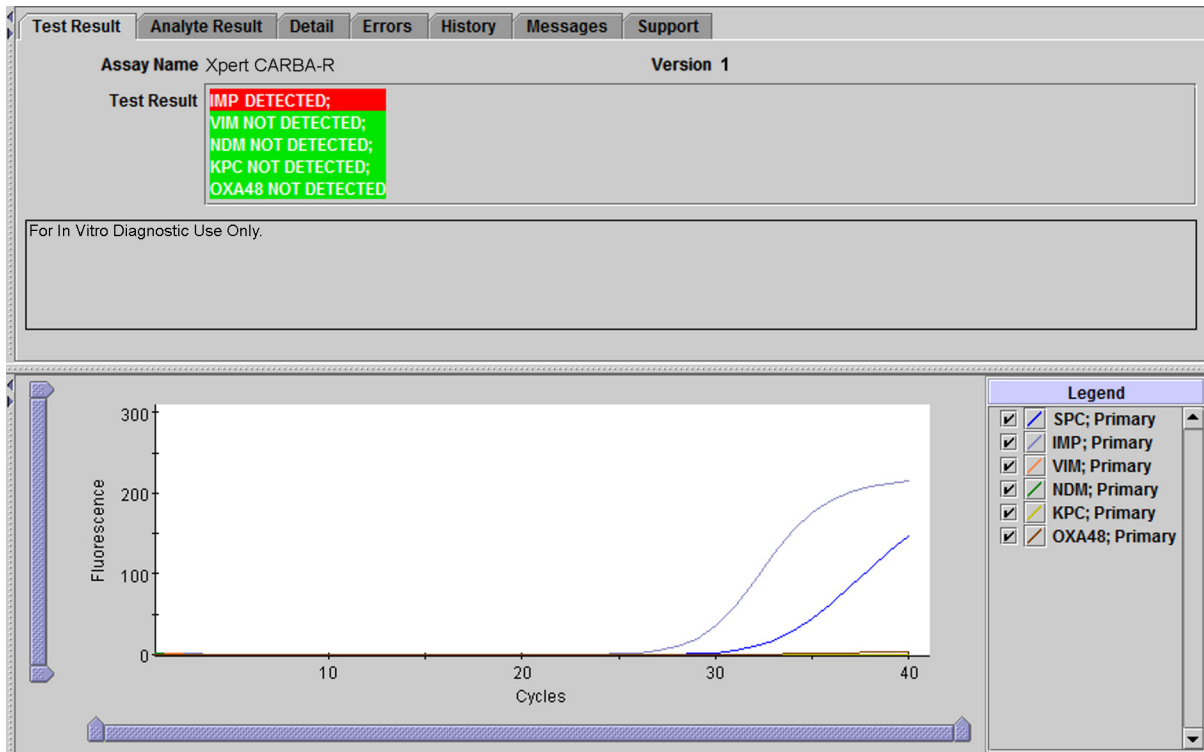


Figura 5. Analiza Carba-R—IMP Detectat

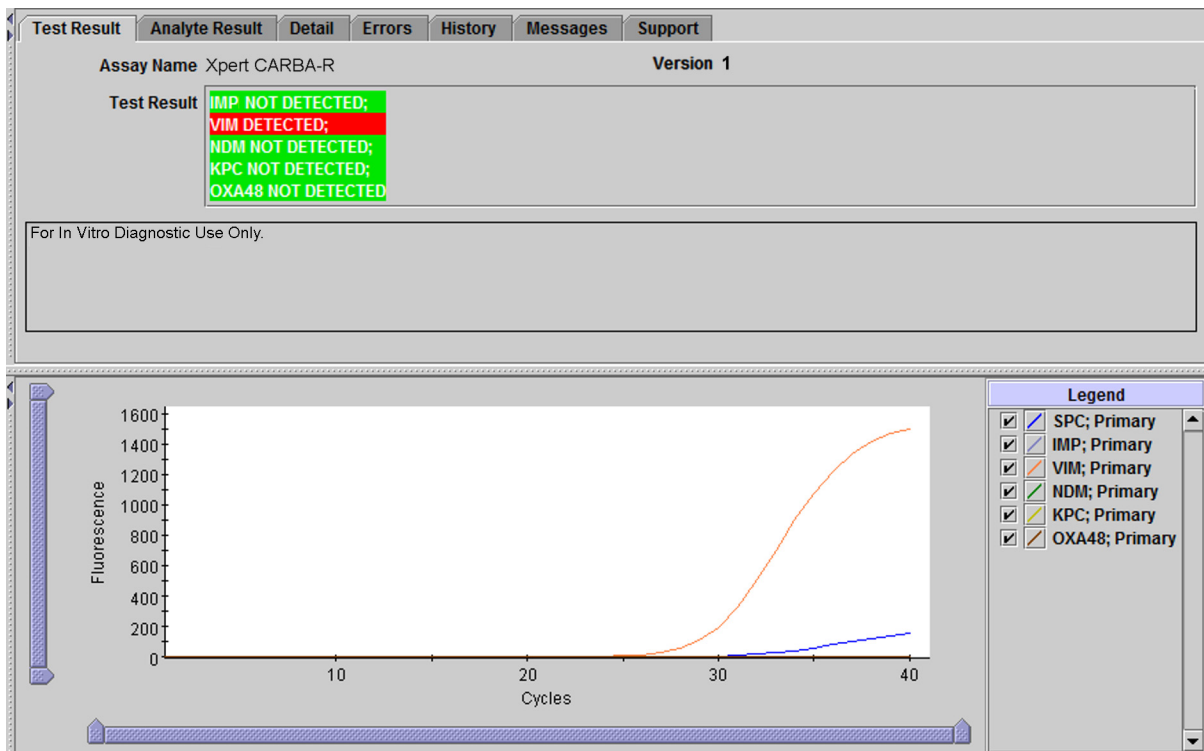


Figura 6. Analiza Carba-R—VIM Detectat

Notă Nu sunt prezentate exemple de probe pozitive pentru NDM, pozitive pentru KPC și pozitive pentru OXA.

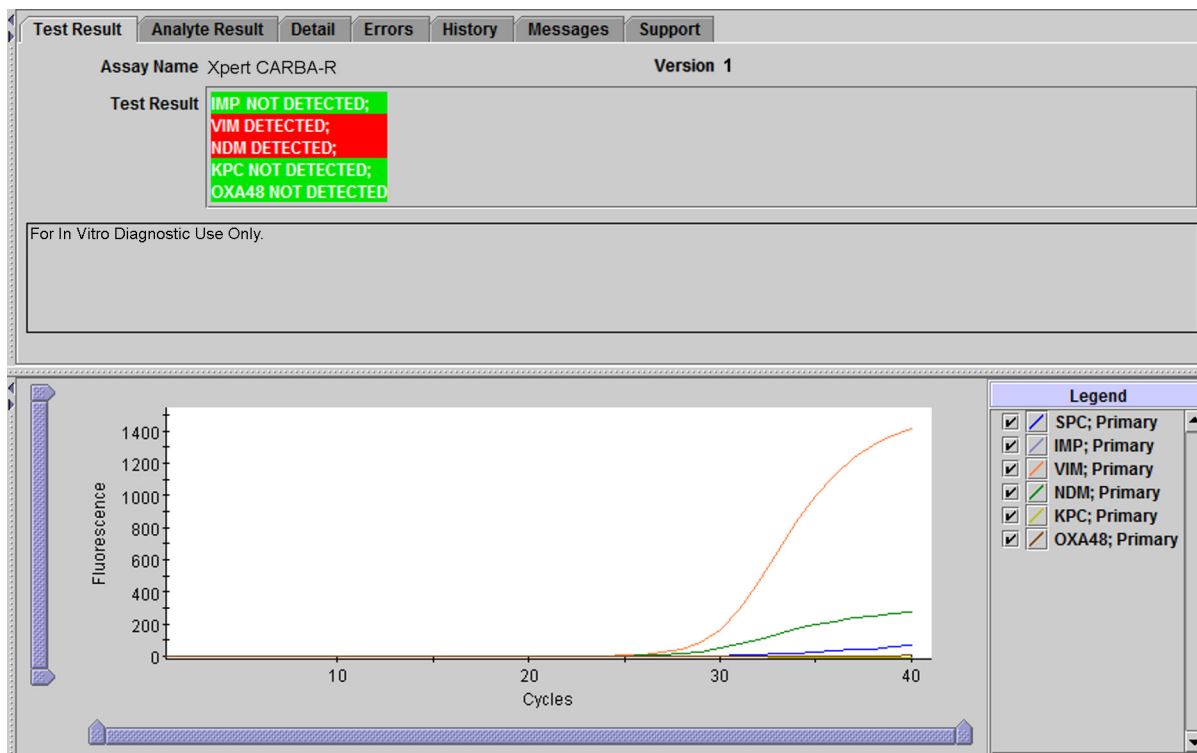


Figura 7. Analiza Carba-R—VIM și NDM Detectate

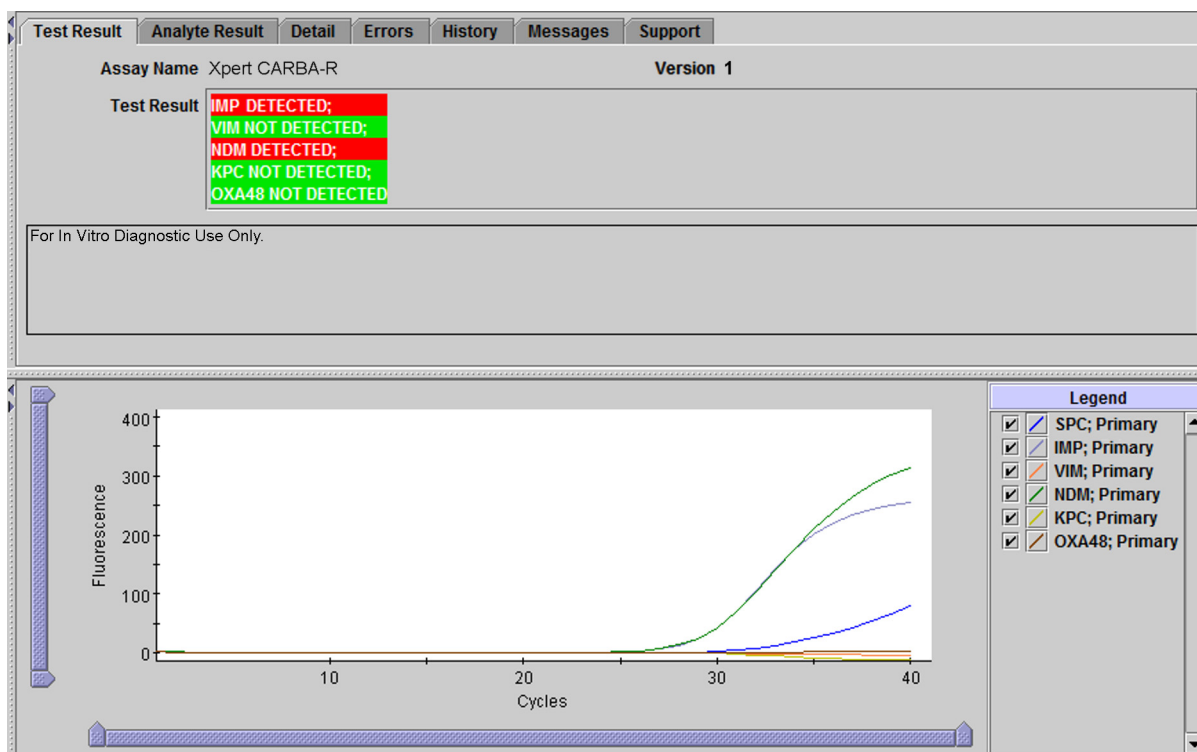


Figura 8. Analiza Carba-R—IMP și NDM Detectate

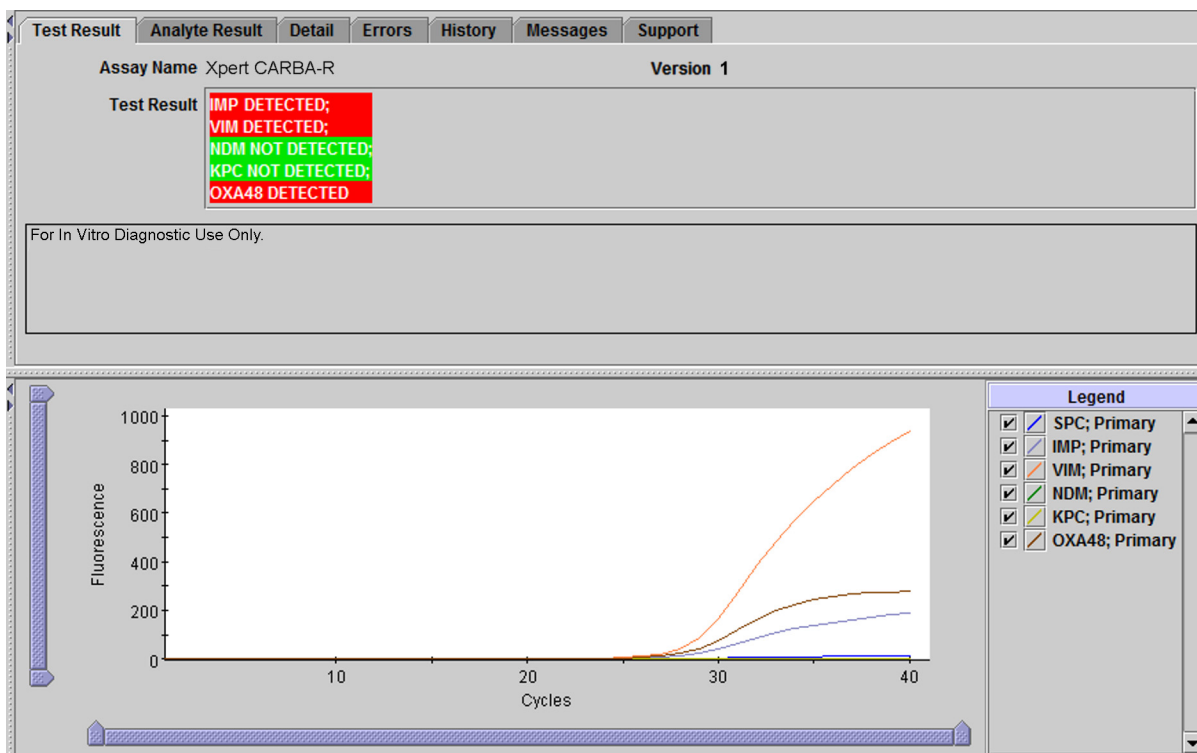


Figura 9. Analiza Carba-R—IMP, VIM și OXA-48 detectate

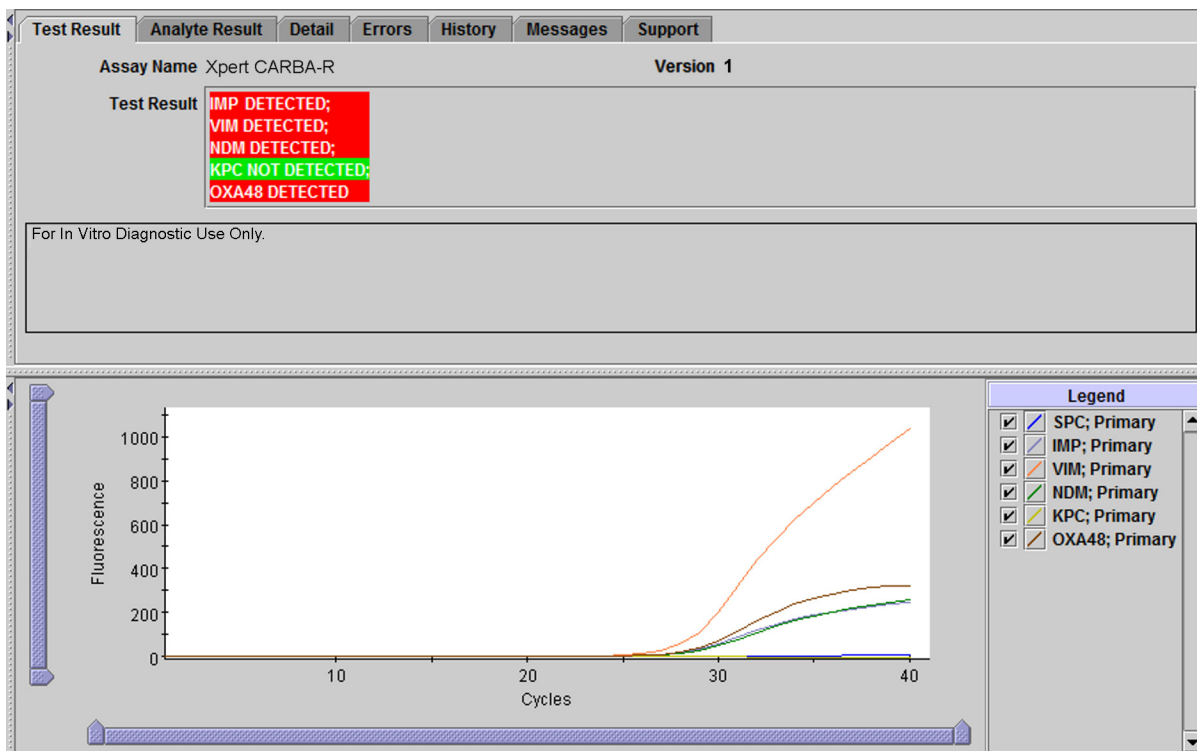


Figura 10. Analiza Carba-R—IMP, VIM, NDM și OXA-48 detectate

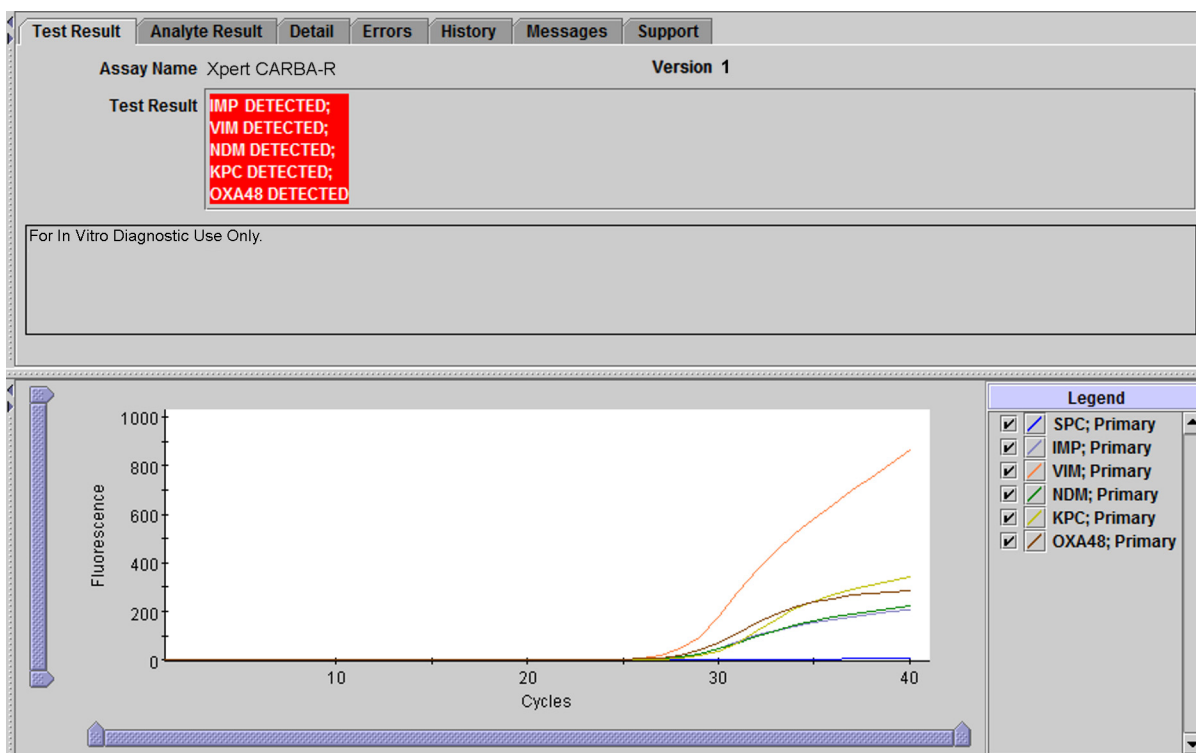


Figura 11. Analiza Carba-R—IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 detectate

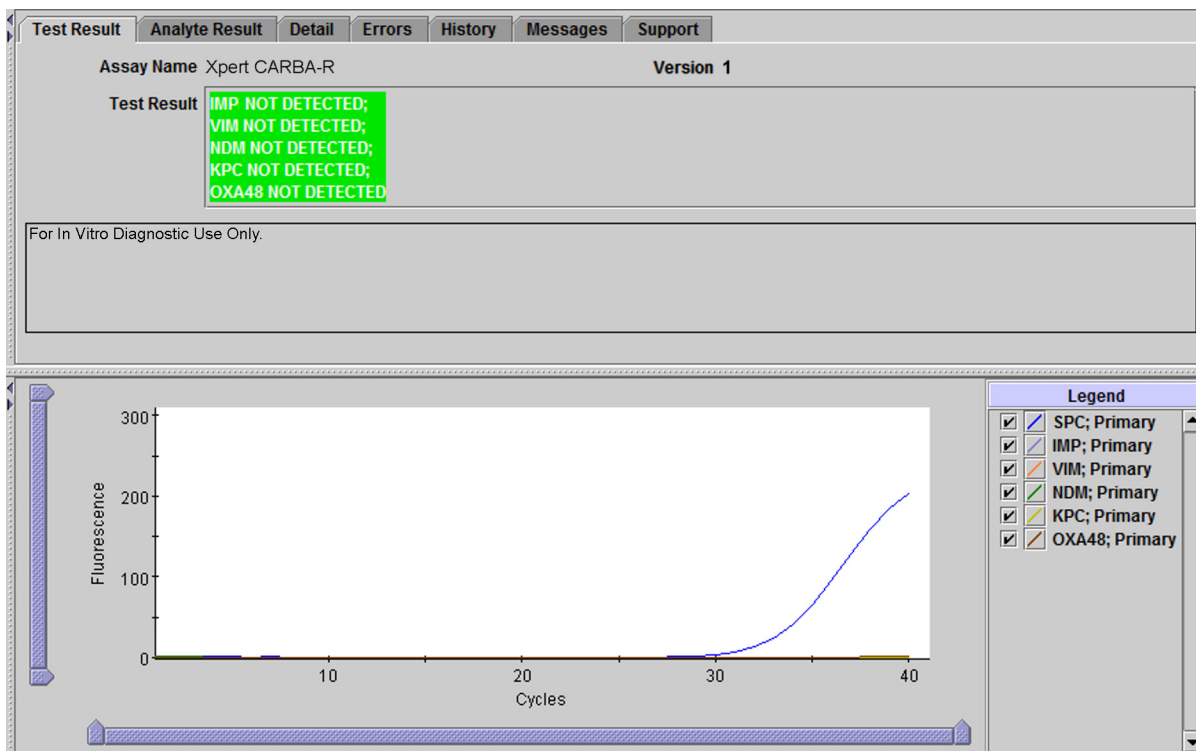


Figura 12. Analiza Carba-R—IMP, VIM, NDM, KPC și OXA-48 nedetectate

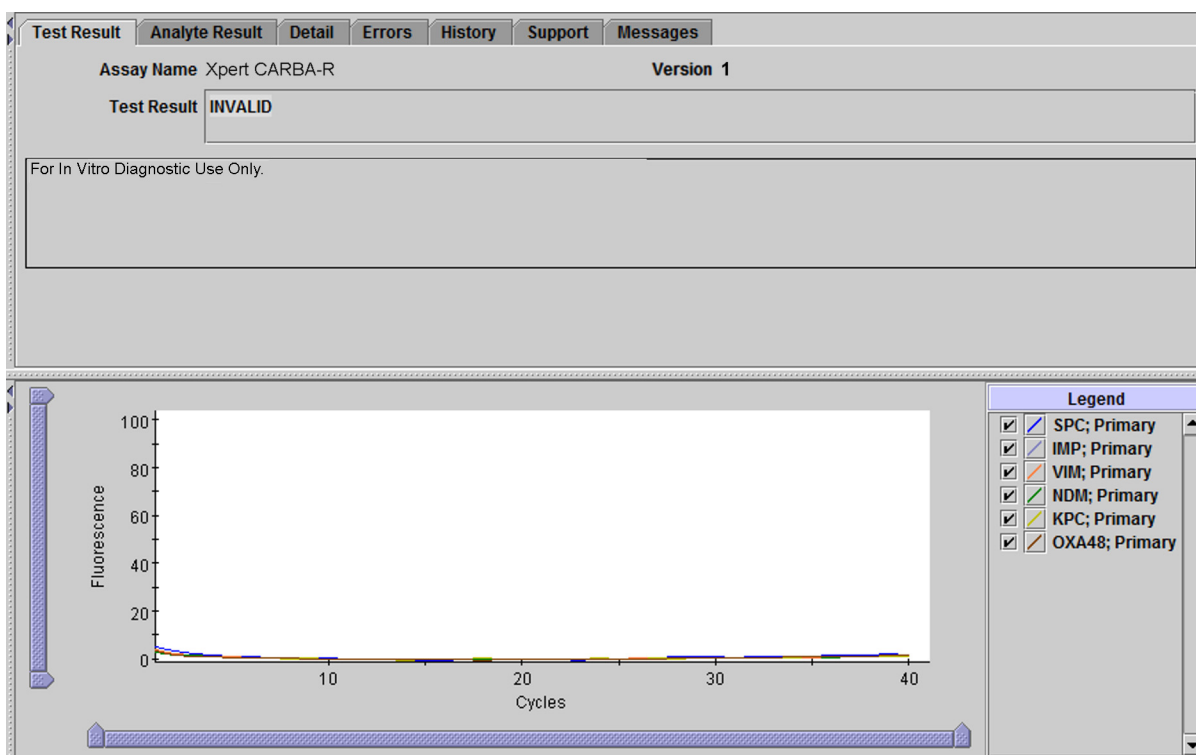


Figura 13. Analiza Carba-R—Nevalidă

13 Motive pentru repetarea testului

Repețați testul folosind un cartuș nou (nu reutilizați cartușul) și un flacon cu reactiv pentru probă nou. Pentru procedura de retestare, consultați Secțiunea 14, Procedura de retestare.

- Un rezultat **NEVALID (INVALID)** indică faptul că SPC a eșuat. Proba nu a fost procesată corespunzător sau PCR a fost inhibată sau volumul de probă adăugat nu a fost adecvat.
- Un rezultat **EROARE (ERROR)** indică faptul că controlul de verificare a sondei a eșuat, iar testul a fost anulat, posibil din cauza unei eprubete de reacție umplută incorect, s-a detectat o problemă de integritate a sondei cu reactiv, deoarece s-a depășit limita maximă de presiune sau s-a detectat o eroare de poziționare a valvei.
- Un mesaj **FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)** indică faptul că au fost colectate date insuficiente. De exemplu, operatorul a oprit un test care era în desfășurare sau a apărut o pană de curent.
- În cazul în care un control extern nu reușește conform așteptărilor, repețați testul de control extern și/sau contactați Asistență tehnică Cepheid pentru asistență.

14 Procedura de retestare

14.1 Procedura de retestare a probelor de tampon rectal și perirectal

1. Scoateți un cartuș nou, un flacon nou cu reactiv pentru probă și o pipetă de transfer nouă din trusă.
2. Scoateți tamponul rămas din recipientul pentru transport.
3. Introduceți tamponul într-un flacon nou cu reactiv pentru probă. Țineți tamponul de tijă, lângă marginea flaconului, ridicați tamponul câțiva milimetri de pe fundul flaconului și îndoiți tija peste marginea flaconului pentru a o rupe la marcaj, lăsând tamponul suficient de scurt pentru a permite acestuia să încapă în flacon și capacului să se închidă bine.
4. Închideți strâns capacul flaconului nou cu reactiv pentru probă și centrifugați la viteză mare timp de 10 secunde.
5. Deschideți capacul cartușului. Folosind pipeta de transfer furnizată, aspirați reactivul pentru probă până la marcajul de pe pipetă, apoi transferați materialul în compartimentul pentru probă a cartușului analizei Xpert Carba-R.
6. Închideți capacul cartușului și așezați cartușul în instrumentul GeneXpert în decurs de 30 de minute. Urmați Secțiunea 10.2, Începerea testului.

14.2 Procedură de retestare a probei de izolat bacterian

1. Scoateți un cartuș nou, un flacon nou cu reactiv pentru probă și o pipetă de transfer nouă din trusă.
2. Transferați întregul conținut al probei rămase din flaconul cu reactiv pentru probă în noul flacon cu reactiv pentru probă.
3. Închideți strâns capacul flaconului nou cu reactiv pentru probă și centrifugați la viteză mare timp de 10 secunde.
4. Deschideți capacul cartușului. Folosind pipeta de transfer furnizată, aspirați reactivul pentru probă până la marcajul de pe pipetă, apoi transferați materialul în compartimentul pentru probă a cartușului analizei Xpert Carba-R.
5. Închideți capacul cartușului și așezați cartușul în instrumentul GeneXpert în decurs de 30 de minute. Urmați Secțiunea 10.2, Începerea testului.

Notă Pentru izolatele bacteriene, nu efectuați procedura de retestare de mai multe ori, deoarece diluțiile repetate pot genera rezultate fals negative.

15 Limitări

15.1 Limitări generale

- Analiza Xpert Carba-R detectează *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} și *bla*_{IMP} din specimene de tampon rectal și perirectal și colonii pure și nu este destinat identificării bacteriene. Detectarea acestor secvențe genice nu indică prezența unor organisme viabile.
- Analiza Xpert Carba-R nu este un instrument de sub-genotipare și nu raportează variante ale genelor *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC} sau *bla*_{OXA-48}
- Anumite specii bacteriene, cum ar fi *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter baumannii* s-au dovedit a prezenta rezistență la carbapeneme datorită mecanismelor de rezistență intrinseci.
- Detectarea altor gene de OXA-carbapenemază, în plus față de *bla*_{OXA-48} și *bla*_{OXA-181}, nu a fost evaluată în cadrul studiului.
- Analizele *in silico* utilizate pentru a prognoza variantele detectate de test s-au bazat pe o comparație a secvențelor genice țintă disponibile în GenBank cu oligonucleotidele amorsei/sondei analizei Xpert Carba-R și secvența ampliconului pentru fiecare genă țintă. Căutările BLAST pentru analiza *in silico* au fost efectuate în 2014-2015. Analiza *in silico* a noilor variante de secvențe genice stocate în baza de date după 2015 pentru cele 5 gene țintă nu a fost efectuată.
- Mutațiile sau polimorfismele din regiunile de legare a amorsei sau sondei pot afecta detectarea variantelor actuale, noi sau necunoscute de *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} și *bla*_{IMP}, ducând la un rezultat fals negativ.
- Analiza Xpert Carba-R va genera un rezultat negativ pentru IMP la testarea probelor care conțin secvențele genice IMP-7, IMP-13 sau IMP-14.
- Performanța analizei Xpert Carba-R cu gene de carbapenemază nețintă, altele decât *bla*_{SPM}, *bla*_{SME} și *bla*_{IMI} nu este cunoscută.
- Deoarece detectarea secvențelor genice *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} și *bla*_{IMP} depinde de numărul de organisme prezente în probă, rezultatele fiabile depind de manipularea și depozitarea corespunzătoare a probelor.
- Testarea cu analiza Xpert Carba-R trebuie utilizată ca adjuvant al altor metode disponibile.
- Rezultatele analizei Xpert Carba-R pot fi uneori **NEVALIDE (INVALID)**, din cauza unui control SPC eșuat, sau pot fi **EROARE (ERROR)** sau **FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)** și necesită o retestare care poate duce la o întârziere în obținerea rezultatelor finale.

15.2 Limitări privind speciile rectale și perirectale

- Performanța analizei Xpert Carba-R nu a fost evaluată cu specimene de tampon rectal sau perirectal de la pacienți copii și adolescenți.
- Studiile analitice utilizând combinații de două populații bacteriene pe specimene artificiale de tampon indică faptul că atunci când o specie bacteriană producătoare de carbapenemază este inoculată în apropierea LoD și o altă specie bacteriană producătoare de carbapenemază este prezentă la concentrații egale sau mai mari de 5×10^6 CFU/tampon, ținta cu concentrație scăzută poate să nu fie detectată. Co-colonizarea cu 2 sau mai multe organisme producătoare de carbapenemază a fost raportată cu analiza Xpert Carba-R, dar este rară. Lipsa detectării unei a doua ținte ar trebui să aibă un impact minim asupra gestionării pacientului, deoarece procedurile de izolare ar fi instituite pentru pacienții care prezintă orice rezultat pozitiv pentru un organism producător de carbapenemază.
- Interferența cu analiza Xpert Carba-R poate fi observată cu sulfat de bariu la $> 0,1\%$ g/v și Pepto-Bismol la $> 0,01\%$ g/v în testele cu probe din matricea de tampon rectal.

- Interferența cu testul Xpert Carba-R poate fi observată cu sulfat de bariu la > 0,1% g/v și Pepto-Bismol la > 0,025% g/v în testele cu probe din matricea de tampon perirectal.
- În probele de tampon rectal care conțin ținta VIM, pot apărea interferențe dacă grăsimea fecală este prezentă la o concentrație de 0,25% g/v, rezultând valori ale pragului de ciclu întârziate.
- Pe lângă grupurile de *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter baumannii* testate în studiul artificial, au fost evaluate și alte tulpini non-*Enterobacteriaceae*: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzae* (1), *Pseudomonas putida* (2) și *Empedobacter brevis* (1). Performanța analizei Xpert Carba-R cu alte non-*Enterobacteriaceae* în afară de aceste 6 specii nu a fost evaluată și, prin urmare, nu este cunoscută.
- Pentru speciile de tampon rectal, Testul Xpert Carba-R a arătat un acord procentual pozitiv redus (PPA de 55,6%) pentru detectarea secvenței genice *bla_{VIM}* în *Pseudomonas aeruginosa*. 4 rezultate fals negative au fost observate cu analiza în speciile în care *Pseudomonas aeruginosa* care conține secvența *bla_{VIM}* a fost recuperată prin metoda de referință.
- Pentru speciile de tampon rectal, analiza Xpert Carba-R a demonstrat un acord procentual pozitiv redus (PPA de 85,7%) pentru detectarea secvenței genice *bla_{IMP}* în *Acinetobacter baumannii* în timpul studiului artificial. În plus, s-a observat un acord procentual total scăzut (86,1%) între centre pentru studiul privind reproductibilitatea, cu probe care conțin concentrații scăzute de organism care conține secvența genică *bla_{IMP}*.
- Anaerobii rezistenți la carbapenem potențial prezenți în speciile fecale nu au fost evaluați de analiza Xpert Carba-R.
- Detectarea *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}*, și/sau *bla_{IMP}* din speciile de tampon rectal și perirectal pot proveni din alte organisme decât *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter baumannii*.
- Performanța analizei Xpert Carba-R cu izolate susceptibile care conțin secvențele genice *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* și/sau *bla_{IMP}* nu a fost evaluată pe deplin.

15.3 Limitări privind coloniile pure

- Pentru coloniile pure, performanța analizei Xpert Carba-R cu alte bacterii decât *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* sau *Acinetobacter baumannii* nu a fost evaluată. Organismele trebuie identificate și starea nesusceptibilității la carbapenem trebuie determinată înainte de testarea cu analiza Xpert Carba-R.
- Pot apărea rezultate eronate ale testului ca urmare a tehnicilor incorecte de cultură, a nerespectării procedurii recomandate de pregătire a suspensiei de 0,5 McFarland, a procedurilor de manipulare și depozitare, a unei erori tehnice; a amestecării probelor; sau din cauză că numărul organismelor din specimen este prea mic pentru a fi detectat de test. Este necesară respectarea cu atenție a instrucțiunilor din acest prospect pentru a evita rezultatele eronate.

16 Valori preconizate

În studiul clinic al analizei Xpert Carba-R, în total 2543 de speciile, constând din speciile de tampon rectal și perirectal, și speciile artificiale au fost evaluate în 8 centre de studiu din și din afara Statelor Unite. Rezultatele analizei Xpert Carba-R în comparație cu cultura și analiza bidirecțională a secvenței de ADN în funcție de gena țintă pentru fiecare dintre speciile prospective combinate și artificiale sunt prezentate în Tabelul 2.

Într-un studiu clinic separat al analizei Xpert Carba-R, în total 467 de izolate bacteriene au fost evaluate în 4 centre de studiu din și din afara Statelor Unite. Rezultatele analizei Xpert Carba-R în comparație cu analiza bidirecțională a secvenței de ADN în funcție de gena țintă pentru fiecare dintre cele 2 tipuri de agar sunt prezentate în Tabelul 8, Tabelul 9, Tabelul 10, Tabelul 11 și Tabelul 12.

17 Caracteristici de performanță

17.1 Performanța clinică - Speciile de tampon rectal și perirectal

Caracteristicile de performanță ale analizei Xpert Carba-R cu speciile de tampon rectal și perirectal au fost determinate într-un studiu de investigație multicentric. Acordul procentual pozitiv (PPA) și acordul procentual negativ (NPA) ale analizei Xpert Carba-R au fost evaluate în raport cu o metodă de referință a culturii (bulion de îmbogățire MacConkey) și PCR/analiza bidirecțională a secvenței de ADN.

8 centre diverse din punct de vedere geografic (6 în Statele Unite și 2 în Europa) au colectat prospectiv speciile pereche de tampon rectal sau perirectal de la subiecți care au fost spitalizați sau într-o unitate de îngrijire pe termen lung. Speciile de tampon rectal și perirectal foarte contaminate, în conformitate cu instrucțiunile din Secțiunea 9 (Pregătirea și depozitarea probelor), au fost excluse din studiu. Din cauza prevalenței scăzute a fiecăreia dintre genele țintă ale analizei Xpert Carba-R, în absența unui focar, au fost incluse, de asemenea, în studiu speciile artificiale.

Un tampon din pereche a fost utilizat pentru analiza Xpert Carba-R. Al doilea tampon a fost inoculat în bulion de îmbogățire MacConkey și utilizat pentru testarea cu metoda de referință. Un laborator de cultură de referință a determinat prezența organismelor nesusceptibile la carbapenem prin cultivarea bulionului de îmbogățire MacConkey din fiecare dintre specieme. Bulionul de îmbogățire MacConkey a fost examinat inițial pentru prezența organismelor nesusceptibile la carbapenem prin cultivarea bulionului pe plăcile de agar MacConkey cu un disc de meropenem.

Pentru speciemele care au prezentat creșterea bacteriilor gram-negative în jurul discului de meropenem, confirmarea nesusceptibilității la carbapenem a fost determinată pe coloniile izolate utilizând metoda de difuzie a discului (conform documentului M02 al CLSI, precum și a documentului M100²⁰ al CLSI). ADN-ul extras din izolatele nesusceptibile la carbapenem a fost purificat, cuantificat și amplificat folosind amorse specifice tuturor celor 5 gene țintă; regiunile amplificate au inclus mai multe baze decât regiunile amplificate de analiza Xpert Carba-R. Generarea dimensiunii adecvate a produsului de amplificare a fost confirmată pe Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA).

Dacă benzile apărute pe Bioanalyzer au corespuns dimensiunii așteptate a ampliconului din oricare dintre cele 5 gene țintă detectate de analiza Xpert Carba-R, ampliconul pentru izolat a fost trimis la un laborator independent pentru analiza de secvențiere bidirecțională de referință, care a fost validată pentru detectarea celor 5 ținte în testul Xpert Carba-R. Dacă nicio bandă nu a apărut pe Bioanalyzer pentru oricare dintre cele 5 gene țintă, izolatul nu a fost trimis pentru analiza secvenței și rezultatul metodei de referință a fost considerat negativ pentru cele 5 gene țintă.

Rezultatele prospective ale speciemenelor obținute cu analiza Xpert Carba-R în comparație cu metoda de referință

În total 802 specieme prospective de tampon rectal au fost inițial înscrise în acest studiu clinic, dintre care 785 au fost eligibile pentru includere. Dintre cele 785 de specieme eligibile, 755 de specieme au fost incluse în setul de date final după excluderi bazate pe abateri de protocol (inclusiv 16 organisme *Stenotrophomonas maltophilia* care au fost excluse din cauza rezistenței lor intrinsece la carbapenemele testate).

În total 963 de specieme prospective de tampon perirectal au fost inițial înscrise în acest studiu clinic, dintre care 947 au fost eligibile pentru includere. Dintre cele 947 de specieme eligibile, 924 de specieme au fost incluse în setul de date final după excluderi bazate pe abateri de protocol (inclusiv 10 organisme *Stenotrophomonas maltophilia*, un organism *Pseudomonas putida* și un organism *Pseudomonas stutzeri* care au fost excluse din cauza criteriilor de proiectare a studiului).

Când a fost efectuat cu specieme prospective de tampon rectal, analiza Xpert Carba-R a demonstrat un interval PPA cuprins între 60,0% și 100% pentru cele 4 ținte de analiză (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} și bla_{OXA-48}) în raport cu metoda de referință (Tabelul 2). NPA pentru secvențele genice bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} și bla_{IMP} a variat între 98,6% și 99,9% în raport cu metoda de referință (Tabelul 2).

Când a fost efectuat cu specieme prospective de tampon perirectal, analiza Xpert Carba-R a demonstrat un PPA de 100% pentru cele 3 ținte de analiză (bla_{NDM} , bla_{KPC} și bla_{OXA-48}) în raport cu metoda de referință. NPA pentru secvențele genice bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} și bla_{IMP} a variat între 99,6% și 100% în raport cu metoda de referință (Tabelul 2).

Cu speciemele prospective de tampon rectal și perirectal combinate, testul Xpert Carba-R a demonstrat un interval PPA cuprins între 60,0% și 100% pentru cele 4 ținte de testare (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} și bla_{OXA-48}) în raport cu metoda de referință (Tabelul 2). NPA pentru secvențele genice bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} și bla_{IMP} a variat între 99,3% și 99,9% în raport cu metoda de referință (Tabelul 2).

Pentru speciemele cu rezultate discordante (analiza Xpert Carba-R a fost pozitiv pentru o genă țintă, dar un organism nesusceptibil la carbapenem nu a fost izolat prin cultura de referință), analiza discordantă a fost efectuată folosind secvențierea bidirecțională pe ADN extras direct din bulion de îmbogățire MacConkey. Rezultatele testării discrepante sunt prezentate în notele de subsol din Tabelul 2.

Tabelul 2. Performanța Xpert Carba-R față de cultura de referință + Secvențierea – Specimene prospective

Tip de specimen	Țintă	N	TP	FP	TN	FN	PPA (ÎI 95%)	NPA (ÎI 95%)
Rectală ^a	IMP	755	0	1 ^b	754	0	Nu este cazul	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)
Perirectală ^h	IMP	924	0	0	924	0	Nu este cazul	100% (99,6 - 100)
	VIM	924	0	0	924	0	Nu este cazul	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)
Combinat ^{a,h}	IMP	1679	0	1 ^b	1678	0	Nu este cazul	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 = număr, TP = pozitiv adevărat, FP = fals pozitiv, TN = negativ adevărat, FN = fals negativ

- Dintre cele 755 de specimene prospective de tampon rectal evaluate în studiu, 636 de specimene nu au generat un izolat de cultură. Dintre cele 119 specimene rămase, 112 organisme nesuscetibile la carbapenem au fost recuperate prin cultura de referință în plus față de 7 organisme susceptibile la carbapenem [*Pseudomonas aeruginosa* (5); *Escherichia coli* (1) și *Enterobacter cloacae* (1)].
- Rezultatele testării prin secvențiere: 1 din 1 a fost negativ pentru IMP.
- Rezultatele testării prin secvențiere: 2 din 8 au fost pozitive pentru VIM; 6 din 8 au fost negative pentru VIM.
- Rezultatele testării prin secvențiere: 1 din 3 a fost pozitiv pentru NDM; 2 din 3 au fost negative pentru NDM.
- Rezultatele testării prin secvențiere: 1 din 6 a fost pozitiv la KPC; 5 din 6 au fost negative la KPC.
- Centrul a raportat că subiectul lua ertapenem în timpul recoltării specimenelor.
- Rezultatele testării prin secvențiere: 3 din 10 au fost pozitive pentru OXA-48; 7 din 10 au fost negative pentru OXA-48.
- Dintre cele 924 de specimene prospective de tampon rectal evaluate în studiu, 891 de specimene nu au generat un izolat de cultură. Dintre cele 33 de specimene rămase, 31 de organisme nesuscetibile la carbapenem au fost recuperate prin cultura de referință în plus față de 2 organisme susceptibile la carbapenem (*Pseudomonas aeruginosa*).

- i. Rezultatele testării prin secvențiere: 4 din 4 au fost negative pentru KPC.
 j. Rezultatele testării prin secvențiere: 1 din 1 a fost negativ pentru OXA-48.
 k. Rezultatele testării prin secvențiere: 1 din 10 a fost pozitiv la KPC; 9 din 10 au fost negative la KPC.
 l. Rezultatele testării prin secvențiere: 3 din 11 au fost pozitive pentru OXA-48; 8 din 11 au fost negative pentru OXA-48.

Performanța analizei Xpert Carba-R pe speciile rectale și perirectale prospective combinate este prezentată în Tabelul 3 după specie. Numai organismele pentru care a fost colectat cel puțin un specimen pozitiv sunt incluse în Tabelul 3.

Tabelul 3. Performanța Xpert Carba-R față de cultura de referință + Secvențierea după tipul de organism – Specimene rectale și perirectale prospective

Specii ^a	Țintă	N	TP	FP	TN	FN	PPA (ÎI 95%)	NPA (ÎI 95%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	IMP	1	0	0	1	0	Nu este cazul	100% (20,7 - 100)
	VIM	1	0	0	1	0	Nu este cazul	100% (20,7 - 100)
	NDM	1	0	0	1	0	Nu este cazul	100% (20,7 - 100)
	KPC	1	1	0	0	0	100% (20,7 - 100)	Nu este cazul
	OXA-48	1	0	0	1	0	Nu este cazul	100% (20,7 - 100)
<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP	4	0	0	4	0	Nu este cazul	100% (51,0 - 100)
	VIM	4	1	0	3	0	100% (20,7 - 100)	100% (43,9 - 100)
	NDM	4	0	0	4	0	Nu este cazul	100% (51,0 - 100)
	KPC	4	0	0	4	0	Nu este cazul	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	Nu este cazul	100% (72,3 - 100)
	VIM	10	0	0	10	0	Nu este cazul	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)

Tabelul 3. Performanța Xpert Carba-R față de cultura de referință + Secvențierea după tipul de organism – Specimene rectale și perirectale prospective (Continuare)

Specii ^a	Țintă	N	TP	FP	TN	FN	PPA (Î 95%)	NPA (Î 95%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP	1	0	0	1	0	Nu este cazul	100% (20,7 - 100)
	VIM	1	0	0	1	0	Nu este cazul	100% (20,7 - 100)
	NDM	1	0	0	1	0	Nu este cazul	100% (20,7 - 100)
	KPC	1	0	0	1	0	Nu este cazul	100% (20,7 - 100)
	OXA-48	1	1	0	0	0	100% (20,7 - 100)	Nu este cazul
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP	63	0	1	62	0	Nu este cazul	98,4% (91,5 - 99,7)
	VIM	63	0	1	62	0	Nu este cazul	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	Nu este cazul	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	Nu este cazul	98,3% (90,9 - 99,7)
	KPC	58	0	2	56	0	Nu este cazul	96,6% (88,3 - 99,1)
	OXA-48	58	0	0	58	0	Nu este cazul	100% (93,8 - 100)

a. *Acinetobacter baumannii* (14) și *Enterobacter amnigenus* (1) au fost recuperate, dar nu au conținut secvențe țintă prin metoda de referință sau analiza Xpert Carba-R.

Mai multe ținte au fost detectate de analiza Xpert Carba-R în 9 specimene prospective. Detaliile sunt furnizate în Tabelul 4, împreună cu rezultatul secvențierii discrepante.

Tabelul 4. Specimene rectale și perirectale prospective cu mai multe ținte detectate

Specimen	Ținte detectate de analiza Xpert Carba-R	Ținte detectate prin secvențierea de referință	Rezultatele testării discrepante - Ținte detectate prin secvențierea de referință
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	Nu este cazul

a. Un organism nu a fost izolat din cultura de referință, prin urmare, secvențierea de referință nu a fost efectuată.

Rezultatele specimenelor artificiale obținute cu analiza Xpert Carba-R în comparație cu metoda de referință

În total 864 de specimene artificiale (432 preparate în matrice de tampon rectal și 432 în matrice perirectală) au fost, de asemenea, testate ca parte a studiului clinic.

Pe lângă grupurile de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter baumannii* testate în studiul artificial, au fost evaluate alte 5 tulpini non-*Enterobacteriaceae*: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzihabitans* (1), *Pseudomonas putida* (2) și *Empedobacter brevis* (1).

Când a fost efectuată cu specimene artificiale, analiza Xpert Carba-R a demonstrat un interval al PPA de 95% până la 100% la toate țintele de testare (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} și bla_{IMP}). NPA pentru secvențele genice bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} și bla_{IMP} a fost de 100% în raport cu metoda de referință (Tabelul 5).

Tabelul 5. Performanța testului Xpert Carba-R față de metoda de referință – Specimene artificiale

Matrice	Țintă	N	TP	FP	TN	FN	PPA (ÎÎ 95%)	NPA (ÎÎ 95%)
Rectală	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)

Tabelul 5. Performanța testului Xpert Carba-R față de metoda de referință – Specimene artificiale

Matrice	Țintă	N	TP	FP	TN	FN	PPA (IÎ 95%)	NPA (IÎ 95%)
Perirectală	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)
Combinat	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)

Studiu privind echivalența tamponelor rectale și perirectale

Pentru a demonstra echivalența speciemenelor de tampon perirectal și a speciemenelor de tampon rectal, s-a efectuat un studiu într-un centru înscrind specieme de tampon rectal și perirectal proaspete colectate prospectiv de la subiecți spitalizați care și-au acordat consimțământul.

Seturile de tampoane pereche furnizate în dispozitivul de colectare a speciemenelor Cepheid au fost utilizate pentru a colecta specieme de la fiecare subiect. Un set de tampoane pereche a fost utilizat pentru a colecta speciemenul de tampon perirectal și un al doilea set de tampoane pereche a fost utilizat pentru a colecta speciemenul de tampon rectal. Speciemenul de tampon perirectal a fost colectat mai întâi, urmat de speciemenul de tampon rectal de la același subiect. Un tampon din fiecare set de tampoane pereche a fost utilizat pentru testarea Xpert Carba-R. Al doilea tampon din fiecare set de tampoane pereche a fost utilizat pentru testarea culturii și a susceptibilității atunci când unul sau ambele specieme de tampon perirectal sau rectal au fost pozitive pentru una sau mai multe ținte cu analiza Xpert Carba-R. Nu s-a efectuat nicio cultură dacă speciemele de tampon perirectal și rectal au fost ambele negative cu analiza Xpert.

Secvențierea bidirecțională a ADN-ului a fost efectuată pe ADN extras din colonii izolate care au manifestat nesusceptibilitate la carbapenem prin metoda de difuzie a discului CLSI sau din bulion MacConkey cu disc de meropenem dacă rezultatul culturii a fost negativ și rezultatul analizei Xpert Carba-R a fost pozitiv. Rezultatele metodei de referință nu au fost utilizate pentru a modifica datele de performanță pentru studiul privind echivalența tamponelor.

În total 207 specieme au fost inițial înscrise în acest studiu clinic, toate fiind eligibile pentru includere. Dintre cele 207 specieme eligibile, 201 specieme au fost incluse în setul de date final utilizat pentru analize. 6 specieme de tampon (4 specieme de tampon perirectal și 2 specieme de tampon rectal) au fost excluse din cauza rezultatelor nedeterminate de la analiza Xpert Carba-R.

Dintre cele 201 specieme incluse în analizele datelor, 92 (45,8%) au fost colectate de la subiecți de sex feminin și 109 (54,2%) de la subiecți de sex masculin. În total, 45,8% (92/201) specieme au fost colectate de la subiecți cu vârste cuprinse între 21 și 65 de ani și 54,2% (109/201) au fost de la subiecți cu vârsta > 65 de ani.

Performanța (PPA și NPA) a analizei Xpert Carba-R utilizând specimene de tampon perirectal a fost determinată în raport cu rezultatele analizei Xpert Carba-R utilizând specimene de tampon rectal de la același subiect. Estimările PPA și NPA sunt prezentate în Tabelul 6. Comparativ cu rezultatul specimenului de tampon rectal Xpert Carba-R, speciimenele de tampon perirectal au demonstrat un PPA și un NPA general de 94,7% (ÎI 95%: 75,4 - 99,1) și, respectiv, de 97,8% (ÎI 95%: 94,5 - 99,1).

Tabelul 6. Analiza Xpert Carba-R – Specimenele de tampon perirectal față de speciimenele de tampon rectal

Analiza Xpert Carba-R – Specimenele de tampon rectal				
Analiza Xpert Carba-R – Specimenele de tampon perirectal		Poz.	Neg.	Total
	Poz.	18 ^a	4 ^b	22
	Neg.	1 ^c	178	179
	Total	19	182	201
PPA			94,7% (ÎI 95%: 75,4 - 99,1)	
NPA			97,8% (ÎI 95%: 94,5 - 99,1)	

- Pentru un specimen, testarea Xpert pe tamponul rectal a fost pozitivă pentru KPC și OXA-48, iar pe tamponul perirectal a fost pozitivă numai pentru OXA-48. Specimenul a fost negativ pentru cultură atât pentru tampoane rectale, cât și pentru tampoane perirectale. Rezultatele secvențierii din bulioanele MacConkey au fost negative pentru tamponul perirectal și pozitive pentru OXA-48 pentru tamponul rectal.
- 2 din 4 au fost pozitive pentru cultură atât pentru tampoane rectale, cât și pentru tampoane perirectale, rezultatele secvențierii din izolate au fost ambele pozitive pentru OXA-48, 1 din 4 a fost negativ pentru cultură atât pentru tampoane rectale, cât și pentru tampoane perirectale, rezultatul secvențierii rectale nu a fost disponibil din cauza că izolatul nu a fost păstrat; izolatul perirectal a fost interpretat ca fiind susceptibil la carbapenem și, conform protocolului, secvențierea nu a fost necesară.
- Negativ pentru cultură atât pentru tampoane rectale, cât și pentru tampoane perirectale, rezultatele secvențierii din bulioane MacConkey au fost ambele pozitive pentru OXA-48.

17.2 Performanța clinică – Izolate bacteriene

Caracteristicile de performanță ale analizei Xpert Carba-R cu izolate bacteriene au fost determinate într-un studiu de investigație multicentric prin compararea analizei Xpert Carba-R cu secvențierea bidirecțională de referință a țintei de ADN amplificat. Probele de studiu au inclus izolate bacteriene cultivate atât din agar din sânge, cât și din agar MacConkey.

Pentru a fi incluse în studiu, izolatele trebuie să fi fost identificate anterior ca *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* sau *Acinetobacter baumannii*. Pentru determinarea sensibilității, izolatele trebuie să fi fost intermediare sau rezistente la meropenem, ertapenem și/sau imipenem conform CLSI M100-S24²². Izolatele de *Pseudomonas aeruginosa* sau *Acinetobacter baumannii* trebuie să fi fost intermediare sau rezistente fie la imipenem, fie la meropenem. Aceste organisme sunt intrinsec rezistente la ertapenem. Pentru evaluarea specificității, izolatele pot să fi fost susceptibile sau rezistente la meropenem, ertapenem și imipenem conform CLSI M100-S24²². Izolatele de *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter baumannii* ar fi trebuit să fie susceptibile atât la imipenem, cât și la meropenem. Izolatele au fost testate o singură dată în cadrul studiului.

În total 489 de izolate bacteriene (431 de izolate clinice stocate și 58 de izolate proaspete) au fost înscrise inițial în acest studiu clinic, dintre care 485 au fost eligibile pentru includere. Izolatele neeligibile au inclus 4 izolate înscrise anterior în studiu.

Dintre cele 485 de izolate eligibile, 467 de izolate (410 izolate clinice stocate și 57 de izolate proaspete) au fost incluse în setul de date final utilizat pentru analizele prezentate în acest raport; 2 izolate au fost excluse deoarece testarea de referință nu a fost efectuată; iar 16 izolate au fost excluse deoarece nu au fost identificate drept *Enterobacteriaceae*, *A. baumannii* sau *P. aeruginosa*.

Pentru analiza Xpert Carba-R, coloniile bine izolate cultivate pe fiecare dintre tipurile de agar au fost diluate într-o suspensie echivalentă standard de 0,5 McFarland folosind metoda suspensiei de colonii directe conform CLSI M07-A9.²³

Pentru secvențierea de referință, ADN-ul din izolatele de cultură a fost purificat, cuantificat și amplificat folosind amorse specifice tuturor celor 5 gene țintă care au fost concepute pentru a amplifica regiuni mai mari din țintele de testare decât amorsele incluse în analiza Xpert Carba-R. Generarea dimensiunii adecvate a produsului de amplificare a fost confirmată pe Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA).

Dacă benzile apărute pe Bioanalyzer au corespuns dimensiunii așteptate a ampliconului din oricare dintre cele 5 gene țintă detectate de analiza Xpert Carba-R, ampliconul pentru izolat a fost trimis la un laborator independent pentru analiza de secvențiere bidirecțională de referință, care a fost validată pentru detectarea celor 5 ținte în analiza Xpert Carba-R. Dacă nicio bandă nu a apărut pe Bioanalyzer pentru oricare dintre cele 5 gene țintă, izolatul nu a fost trimis pentru analiza secvenței și rezultatul metodei de referință a fost considerat negativ pentru cele 5 gene țintă.

Au fost detectate mai multe ținte de testul Xpert Carba-R în probe de la 10 izolate. Detaliile sunt furnizate în Tabelul 7, împreună cu rezultatul secvențierii de referință.

Tabelul 7. Izolate cu mai multe ținte detectate

Izolat	Tipul agar ^a	Ținte detectate de analiza Xpert Carba-R	Ținte detectate prin secvențierea de referință
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 = agar din sânge; MC = agar MacConkey

Când a fost efectuată testarea cu izolate de agar din sânge, analiza Xpert Carba-R a demonstrat o sensibilitate generală și specificitate de 100,0% (ÎI 95%: 99,0 - 100) și 98,1% (ÎI 95%: 93,2 - 99,5), respectiv, raportat la secvențierea de referință efectuată din izolatele de agar din sânge (Tabelul 8). Rezultatul combinat a fost definit drept pozitiv pentru analiza Xpert Carba-R dacă oricare dintre ținte a fost pozitivă și negativ pentru analiza Xpert Carba-R dacă toate țintele au fost negative.

Tabelul 8. Xpert Carba-R (agar din sânge) față de secvențierea de referință (izolat cultivat pe agar din sânge) – Combinat

Țintă	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilitate (ÎI 95%)	Specificitate (ÎI 95%)
Combinat	467	364 ^a	2 ^a	101	0	100% (99,0 - 100)	98,1% (93,2 - 99,5)

a. Rezultatele combinate reprezintă rezultatele după izolat. Au fost observate rezultate pentru mai multe ținte pentru unele izolate.

Când a fost efectuată cu izolate de agar din sânge, analiza Xpert Carba-R a demonstrat o sensibilitate și o specificitate > 99% pentru fiecare dintre cele 5 ținte de testare, în raport cu secvențierea de referință efectuată din izolatele de agar din sânge (Tabelul 9).

Pentru izolatele cu rezultate discordante între analiza Xpert Carba-R și secvențierea de referință, testarea discrepantă a fost efectuată utilizând secvențierea bidirecțională pe izolatele din plăci de agar MacConkey. Rezultatele testării discrepante sunt prezentate în notele de subsol din Tabelul 9 și Tabelul 11.

Tabelul 9. Xpert Carba-R (agar din sânge) față de secvențierea de referință (izolat cultivat pe agar din sânge) – După țintă

Țintă	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilitate (ÎI 95%)	Specificitate (ÎI 95%)
IMP	467	40	1 ^a	426	0	100% (9,2 - 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. Rezultatul secvențierii bidirecționale a ADN-ului pentru acest izolat IMP fals pozitiv a prezentat o omologie a secvenței de 92,95%, care a fost ușor sub criteriile limită de 95%. Testarea discrepantă nu a fost efectuată.
- b. Rezultate discrepante ale testării: 1 din 1 a fost pozitiv pentru VIM.
- c. Acest izolat fals pozitiv este cauzat probabil de contaminarea încrucișată cu KPC la nivelul pregătirii probei. Testarea discrepantă nu a generat o potrivire de secvență cu ținta KPC. Testarea discrepantă a generat o potrivire de secvență pentru ținta VIM, prin urmare acest izolat este clasificat ca TP în evaluarea „Combinat” prezentată în Tabelul 8 de mai sus.

Când a fost efectuată testarea cu izolate de agar din MacConkey, analiza Xpert Carba-R a demonstrat o sensibilitate generală și specificitate de 100,0% (ÎI 95%: 99,0 - 100) și 97,1% (ÎI 95%: 91,8 - 99,0), respectiv, raportat la secvențierea de referință efectuată din izolatele de agar din sânge (Tabelul 10). Rezultatul combinat a fost definit drept pozitiv pentru analiza Xpert Carba-R dacă oricare dintre ținte a fost pozitivă și negativ pentru analiza Xpert Carba-R dacă toate țintele au fost negative.

Tabelul 10. Xpert Carba-R (agar MacConkey) față de secvențierea de referință (izolat cultivat pe agar din sânge) – Combinat

Țintă	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilitate (ÎI 95%)	Specificitate (ÎI 95%)
Combinat	467	364 ^a	3	100	0	100% (99,0 - 100)	97,1% (91,8 - 99,0)

- a. Rezultatele combinate reprezintă rezultatele după izolat. Au fost observate rezultate pentru mai multe ținte pentru unele izolate.

Când a fost efectuată cu izolate de agar MacConkey, analiza Xpert Carba-R a demonstrat o sensibilitate și o specificitate >99% pentru fiecare dintre cele 5 ținte de testare, în raport cu secvențierea de referință efectuată din izolatele de agar din sânge (Tabelul 11).

Tabelul 11. Xpert Carba-R (agar MacConkey) față de secvențierea de referință (izolat cultivat pe agar din sânge) – După țintă

Țintă	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilitate (ÎI 95%)	Specificitate (ÎI 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)

- Rezultatul secvențierii bidirecționale a ADN-ului pentru acest izolat IMP fals pozitiv a prezentat o omologie a secvenței de 92,95%, care a fost ușor sub criteriile limită de 95%. Testarea discrepantă nu a fost efectuată.
- Rezultate discrepante ale testării: 1 din 1 a fost pozitiv pentru VIM.
- Centrul clinic a raportat că caracterizarea internă a acestui izolat fals pozitiv înainte de testarea de studiu a dus la o țintă a genei NDM pozitivă. Testarea discrepantă nu a generat o potrivire de secvență pentru niciuna dintre cele 5 gene țintă.

Performanța analizei Xpert Carba-R după grup de organisme specifice este prezentată în Tabelul 12 atât pentru mediul de agar din sânge, cât și pentru mediul de agar MacConkey. Rezultatul general a fost definit drept pozitiv pentru analiza Xpert Carba-R dacă oricare dintre ținte a fost pozitivă și negativ pentru analiza Xpert Carba-R dacă toate țintele au fost negative.

Tabelul 12. Xpert Carba-R față de secvențierea de referință

Mediu	Organisme	Țintă	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilitate (ÎI 95%)	Specificitate (ÎI 95%)
Agar din sânge	<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)
		Generale	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	Nu este cazul	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	Nu este cazul	100% (95,4 - 100)
		Generale	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	Nu este cazul	100% (92,0 - 100)
		NDM	44	5	0	39	0	100% (56,6 - 100)	100% (91,0 - 100)
		KPC	44	0	0	44	0	Nu este cazul	100% (92,0 - 100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	Nu este cazul	100% (92,0 - 100)
		Generale	44	25	0	19	0	100% (86,7 - 100)	100% (83,2 - 100)

Tabelul 12. Xpert Carba-R față de secvențierea de referință (Continuare)

Mediu	Organisme	Țintă	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilitate (ÎI 95%)	Specificitate (ÎI 95%)
Agar MacConkey	<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)
		Generale	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	Nu este cazul	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	Nu este cazul	100% (95,4 - 100)
		Generale	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	Nu este cazul	100% (92,0 - 100)
		NDM	44	5	0	39	0	100% (56,6 - 100)	100% (91,0 - 100)
		KPC	44	0	0	44	0	Nu este cazul	100% (92,0 - 100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	Nu este cazul	100% (92,0 - 100)
		Generale	44	25	0	19	0	100% (86,7 - 100)	100% (83,2 - 100)

a. Rezultatele generale reprezintă rezultatele după izolat. Au fost observate rezultate pentru mai multe ținte pentru unele izolate.

Rezultatele analizei Xpert Carba-R prin fenotipare sunt prezentate în Tabelul 13 și Tabelul 14 mai jos. Rezultatele fenotipice s-au bazat pe identificarea organismului și rezultatele de susceptibilitate pentru fiecare dintre izolate. Rezultatul combinat a fost definit drept pozitiv pentru analiza Xpert Carba-R dacă oricare dintre cele 5 ținte de analiză a fost pozitivă și negativ pentru analiza Xpert Carba-R dacă toate cele cinci ținte ale analizei au fost negative. Un fenotip non-susceptibil înseamnă că izolatul a fost intermediar sau rezistent la cel puțin un carbapenem. Un fenotip susceptibil înseamnă că izolatul a fost susceptibil la imipenem, meropenem și ertapenem.

Tabelul 13. Xpert Carba-R (agar din sânge) vs. Fenotip – Combinat

		Rezultate fenotipice		
Xpert Carba-R		Non-susceptibile	Susceptibil	Total
	Gene detectate	356	10	366
	Gene nedetectate	95	6	101
	Total	451	16	467

Tabelul 14. Xpert Carba-R (agar MacConkey) vs. Fenotip – Combinat

		Rezultate fenotipice		
Xpert Carba-R		Non-susceptibile	Susceptibil	Total
	Gene detectate	357	10 ^a	367
	Gene nedetectate	94 ^b	6	100
	Total	451	16	467

- Cele 10 izolate care sunt fenotipic susceptibile la carbapenem, dar pozitive prin analiza Xpert Carba-R pot conține mutații care inactivează sau reglează în jos expresia genei de rezistență la carbapenem detectată de analiza Xpert Carba-R.
- Cele 94 de izolate care sunt fenotipic carbapenem non-susceptibile, dar negative prin analiza Xpert Carba-R pot conține alte mecanisme de rezistență la carbapenem, cum ar fi beta-lactamazele AmpC sau beta-lactamazele cu spectru extins în combinație cu mutații porine sau eventual alte gene de rezistență la carbapenem care sunt nu a sunt detectate de analiza Xpert Carba-R.

Dintre cele 934 de teste efectuate (467 de izolate x 2 tipuri de agar), unul a avut un rezultat inițial **FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)** (0,10%, ÎI 95% 0,00 - 0,58). Izolatul a generat rezultate valide la repetarea analizei. Rata generală de raportare a unor rezultate valide ale analizei a fost de 100% (934/934).

18 Performanță analitică

18.1 Sensibilitate analitică (limită de detecție) – tamponare rectale și perirectale

Sensibilitatea analitică sau Limita de detecție (LoD) a analizei Xpert Carba-R a fost evaluată folosind organisme producătoare de carbapenemază însămânțate în matrice de tampon rectal uman negativ combinat și în matrice de tampon perirectal uman negativ combinat. LoD a fost determinată pentru 2 bacterii producătoare de carbapenemază pentru fiecare analit al genelor, adică genele care codifică KPC, NDM, VIM, OXA-48 și IMP. Bacteriile au fost titrate prin numărarea plăcilor și îmbogățite pe tamponare curate. Tamponarele au fost introduse în matrice de tampon rectal negativ combinat sau în matrice de tampon perirectal negativ combinat și au fost evaluate replicate de 20 la minimum 5 concentrații diferite în decurs de 4 zile. LoD pentru fiecare dintre cele 10 organisme producătoare de carbapenemază a fost estimată prin analiza probit. LoD este definită drept cea mai joasă concentrație a celulelor țintă (CFU/tampon) care poate fi distinsă în mod reproductibil din probele negative, cu o încredere de 95%. Studiul a fost efectuat cu 2 loturi diferite de reactivi Xpert Carba-R, iar LoD revendicată este cea mai mare dintre cele 2 determinări. Valorile LoD estimate au fost verificate prin pregătirea și testarea a 10 replicate din 2 diluții independente ale fiecărei bacterii la fiecare LoD estimată.

LoD revendicată pentru fiecare pereche de organism producător de carbapenemază în matrice de tampon rectal și de tampon perirectal este prezentată în Tabelul 15 și Tabelul 16.

Tabelul 15. Estimări ale LoD și verificare pentru organisme care găzduiesc gene de carbapenemază folosind analiza Xpert Carba-R în matrice de tampon rectal

Genă țintă și organism	Estimări ale LoD (Probit) CFU/tampon		LoD revendicată CFU/tampon	LoD estimată în reactiv pentru probă (CFU/ml)	Verificare (rezultate pozitive/20)
	Lotul 1	Lotul 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

Tabelul 16. Estimări ale LoD și verificare pentru organisme care găzduiesc gene de carbapenemază folosind analiza Xpert Carba-R în matrice de tampon perirectal

Genă țintă și organism	Estimări ale LoD (Probit) CFU/tampon		LoD revendicată CFU/tampon	LoD estimată în reactiv pentru probă CFU/ml	Verificare (rezultate pozitive/20)
	Lotul 1	Lotul 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 Reactivitate analitică (inclusivitate)

18.2.1 Studiu privind matricele de tampon rectal și perirectal

Reactivitatea analitică a analizei Xpert Carba-R cu matrice de tampon rectal și de tampon perirectal a fost evaluată prin testarea unui grup de 72 de probe. Acest grup a constat din următoarele tulpini bacteriene bine caracterizate: 11 *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) și un *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (KPC/VIM). Tulpinile testate în matricele de tampon rectal și perirectal și concentrațiile testate sunt prezentate în Tabelul 17.

Pentru testare pe matrice de tampon rectal și de tampon perirectal, organismele au fost însămânțate în matrice de tampon rectal negativ combinat sau matrice de tampon perirectal negativ combinat. Toate tulpinile bacteriene au fost testate în triplicat pentru ambele matrice de tampon. Genele țintă ale analizei Xpert Carba-R au fost detectate în 69 din 72 de tulpini bacteriene producătoare de carbapenemază, deși IMP-4 a fost detectat doar folosind o concentrație mai mare (Tabelul 17). Secvențele de ADN țintă ale analizei Xpert Carba-R nu au fost detectate în 3 tulpini bacteriene așa cum se arată în Tabelul 17. La una dintre cele 3 tulpini bacteriene, gena IMP-13 nu a fost detectată de analiză, deși s-a prognozat că va fi detectată prin analiza *in silico*. La 2 dintre celelalte 3 tulpini bacteriene, în cazul genelor IMP-7 și IMP-14 nu s-a prognozat că vor fi detectate prin analiza *in silico* și nu au fost detectate de analiză. Consultați Secțiunea 15, Limitări pentru prospect.

Tabelul 17. Reactivitatea analitică a analizei Xpert Carba-R în matrice de tampon rectal și de tampon perirectal

Identificator tulpină	Organism	Marker de rezistență cu informații despre variante	Concentrația testată în matrice de tampon rectal și de tampon perirectal (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

Tabelul 17. Reactivitatea analitică a analizei Xpert Carba-R în matrice de tampon rectal și de tampon perirectal

Identificator tulpină	Organism	Marker de rezistență cu informații despre variante	Concentrația testată în matrice de tampon rectal și de tampon perirectal (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-DISCURI	<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
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	20
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1	250

Tabelul 17. Reactivitatea analitică a analizei Xpert Carba-R în matrice de tampon rectal și de tampon perirectal

Identificator tulpină	Organism	Marker de rezistență cu informații despre variante	Concentrația testată în matrice de tampon rectal și de tampon perirectal (CFU/ml)
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. Aceste organisme nu au fost testate ca izolate bacteriene.

b. Genele IMP-7 și IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) nu au fost detectate prin analiză și nu s-au prezis a fi detectate prin analiza *in silico* (consultați Secțiunea 15, Limitări).

c. Gena IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*): deși s-a prezis a fi detectată prin analiză *in silico*, gena IMP-13 nu a fost detectată prin test (consultați Secțiunea 15, Limitări).

18 2.2 Studiu privind izolatele bacteriene

Reactivitatea analitică a analizei Xpert Carba-R cu izolate bacteriene a fost, de asemenea, evaluată prin testarea unui grup de 71 de probe constând din următoarele tulpini bacteriene bine caracterizate: 11 *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) și 1 *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (KPC/VIM). Tulpinile testate ca izolate bacteriene sunt prezentate în Tabelul 18.

Pentru testarea izolatelor bacteriene, organismele au fost testate în replicate de 4 care au fost preparate prin diluarea a 10 μl de suspensie de celule de 0,5 McFarland pentru fiecare tulpină bacteriană în 5 ml de reactiv pentru probă. Testarea a fost efectuată folosind atât plăci de agar din sânge, cât și plăci MacConkey. Genele țintă ale analizei Xpert Carba-R au fost detectate la 68 din 71 de tulpini bacteriene de pe ambele plăci. Secvențele de ADN țintă ale analizei Xpert Carba-R nu au fost detectate în 3 tulpini bacteriene așa cum se arată în nota de subsol de la Tabelul 18. La una dintre cele 3 tulpini bacteriene, gena IMP-13 nu a fost detectată de analiză, deși s-a prognozat că va fi detectată prin analiza *in silico*. La 2 dintre cele 3 tulpini bacteriene, în cazul genelor IMP-7 și IMP-14 care nu au fost detectate prin analiză, s-a prognozat, de asemenea, că nu vor fi detectate prin analiza *in silico*. Consultați secțiunea Limitări din prospect.

Tabelul 18. Reactivitatea analitică a analizei Xpert Carba-R – Izolate bacteriene

Identificator tulpină	Organism	Marker de rezistență cu informații despre variante
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
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

Tabelul 18. Reactivitatea analitică a analizei Xpert Carba-R – Izolate bacteriene (Continuare)

Identificator tulpină	Organism	Marker de rezistență cu informații despre variante
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-DISCURI	<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
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. Nedetectat de Xpert Carba-R (consultați Secțiunea 15, Limitări).

b. Genele IMP-7 și IMP-14 nu au fost detectate prin analiză și nu s-au prezis a fi detectate prin analiza *in silico* (consultați Secțiunea 15, Limitări).

Variantele detectate și prognozele pentru detectarea altor subtipuri ale fiecărei gene de rezistență pe baza analizei *in silico*, sunt prezentate în Tabelul 19 (reprezentând rezultate atât din matricea de tampon rectal, cât și din studiul privind izolatele bacteriene).

Tabelul 19. Rezumatul variantelor detectate prin testare umedă sau prognozate a fi detectate pe baza analizei *in silico*

Marker (sau subgrup tradițional)	Testare umedă			Netestată, dar prognozată a fi detectată pe baza analizei <i>in silico</i>
	Nr. de probe	Tip(uri) detectat(e)	Tip(uri) nedetectat(e)	
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 (variante OXA-48)	--	OXA-162, 163, 204, 232, 244, 245, 247
IMP	17	IMP-1 (9 tulpini), 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. Genele IMP-7 și IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) nu au fost detectate prin analiză și nu s-au prezis a fi detectate prin *analiza in silico* (consultați Secțiunea 15, Limitări).
- b. Gena IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*) a fost testată: deși s-a prezis a fi detectată prin *analiză in silico*, gena IMP-13 nu a fost detectată prin test (consultați Secțiunea 15, Limitări).

18.3 Specificitate analitică (reactivitate încrucișată)

Specificitatea analitică a analizei Xpert Carba-R a fost evaluată pentru izolate bacteriene, organisme înșămânțate în matrice de tampon rectal și organisme înșămânțate în matrice de tampon perirectal. Pentru toate cele 3 tipuri de specimene, un grup de 62 de tulpini bacteriene bine caracterizate de bacterii susceptibile la carbapenem sau bacterii nesuscetibile la carbapenem datorită unor gene sau mecanisme, altele decât genele țintă Xpert Carba-R (Tabelul 20 și Tabelul 21) și 24 de tulpini bacteriene comensale și alte microorganisme enterice au fost, de asemenea, evaluate în cadrul studiului (Tabelul 22). Celulele umane au fost, de asemenea, testate în matrice de tampon rectal și perirectal (Tabelul 23). Mecanismele de rezistență au fost determinate prin teste PCR individuale, analiza secvenței ADN sau matricea Check-Points versiunea CT102.

Pentru probele din matricea de tampon rectal și din matricea de tampon perirectal, au fost testate 62 de tulpini la concentrații $> 1 \times 10^6$ CFU/ml, cu excepția *Peptostreptococcus anaerobius* care a fost testat la 5×10^5 CFU/ml. Virusurile au fost testate la $> 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml sau la mai mult de 1×10^7 copii ARN/ml. O linie de celule ale vezicii urinare (ADN genomic uman) a fost testată la 1×10^5 celule/ml. Organismele au fost diluate în matrice de tampon rectal negativ combinat sau în matrice de tampon perirectal negativ combinat și testate în triplicat. Niciunul dintre cele 94 de organisme potențial reactive încrucișate și acizii nucleici testați nu a fost detectat cu analiza Xpert Carba-R.

Pentru izolatele bacteriene, organismele au fost cultivate aerob pe plăci de agar din sânge și de agar MacConkey. 2 suspensii de celule echivalente cu o suspensie de celule de 0,5 McFarland au fost preparate din colonii izolate pe fiecare tip de placă de agar. Fiecare organism a fost testat în total de 4 ori (2 replicare din fiecare dintre cele 2 suspensii de celule de 0,5 McFarland per organism) din fiecare placă.

Analiza Xpert Carba-R nu a reacționat încrucișat cu niciunul dintre organismele testate (Tabelul 20, Tabelul 21, Tabelul 22 și Tabelul 23). Specificitatea analitică a analizei a fost de 100%.

Tabelul 20. Numărul de organisme susceptibile și nesuscetibile la carbapenem pentru fiecare antibiotic

	Ertapenem	Imipenem	Meropenem
Susceptibil	19	30	24
Intermediar	0	8	4
Rezistent	43	24	34

Tabelul 21. Grup de reactivitate încrucișată

Organism	Identificator tulpină	Mecanisme de rezistență confirmate	Susceptibilitate la cabapenem (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 13441	CTX-M (-1, asemănător tipului 15); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13465	CTX-M (25)	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	810	Cu deficiență de 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, asemănător tipului 15); SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32598	CTX-M (-1, asemănător tipului 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
<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-/Cultură+; 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

Tabelul 21. Grup de reactivitate încrucișată (Continuare)

Organism	Identificator tulpină	Mecanisme de rezistență confirmate	Susceptibilitate la cabapenem (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<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, asemănător tipului 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, asemănător tipului 15); TEM	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-1	CTX-M (-1, asemănător tipului 15); SHV	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-2	CTX-M (-1, asemănător tipului 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, asemănător tipului 15); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	X2135758	CTX-M (-1, asemănător tipului 15); SHV	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3809535	CTX-M (-1, asemănător tipului 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
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0130	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0131	SME	R	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i> grup	CDC0132	IMI	R	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	CDC0164	IMI	R	R	R

a. S/I/R = Susceptibil/Intermediar/Rezistent, ETP = Ertapenem, IMP = Imipenem, MEM = Meropenem

Tabelul 22. Grup de reactivitate încrucișată (microorganisme comensale și alte microorganisme enterice)

Identificator tulpină	Organism	Concentrație testată (CFU/ml, dacă nu se specifică altfel)
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
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 B Tipul 7A/NY ^a	1,40E+05 TCID ₅₀ /ml
MRVP/ZeptoMetrix	Enterovirus Tipul 71/NY ^a	4,40E+05 TCID ₅₀ /ml
Probă clinică – Cepheid	Norovirus GI ^a	2,5 x 10 ⁷ copii ARN/ml

a. Aceste organisme au fost testate în matrice de tampon rectal și de tampon perirectal.

Tabelul 23. Linie de celule care reprezintă ADN genomic uman

Numele organismului	Sursă
Carcinom al celulelor vezicii urinare (ADN genomic uman)	ATCC HTB-4

18.4 Interferența competitivă

S-a efectuat un studiu privind interferența competitivă pentru a testa dacă un titru ridicat al unuia sau mai multor organisme producătoare de carbapenemază ar interfera cu detectarea unui al doilea organism producător de carbapenemază țintă care era prezent la un titru scăzut. Probele cu titru ridicat au fost formulate la concentrații de 5×10^6 CFU/tampon, iar țintele cu titru scăzut au fost formulate la aproximativ $2x$ LoD pentru tulpina respectivă, fie în matrice de tampon rectal, fie în matrice de tampon perirectal. În acest studiu a fost utilizată o tulpină bacteriană producătoare de carbapenemază pentru fiecare analit genic, adică genele care codifică KPC, NDM, VIM, OXA-48 și IMP. Fiecare tip de tulpină bacteriană producătoare de carbapenemază a fost testat la titruri scăzute împreună cu un titru ridicat al fiecăruia din 1 sau două alte tipuri de tulpini bacteriene producătoare de carbapenemază (Tabelul 24). Probele au fost testate în replicate de 8.

A fost observat un efect inhibitor pentru 3 dintre cele 5 ținte (IMP, VIM și OXA-48) atunci când o concentrație scăzută a fiecărei ținte a fost prezentă în combinație cu o concentrație ridicată a 1 sau a 2 alte ținte pentru probele testate în matricea de tampon rectal. Cele 3 ținte (IMP, VIM și OXA-48) au fost testate la o concentrație mai mare ($4x$ LoD) în combinație cu o concentrație ridicată a 1 sau a 2 alte ținte pentru probele din matricea de tampon rectal. Nu s-a observat niciun efect inhibitor pentru cele 3 ținte (IMP, VIM și OXA-48) la $4x$ LoD în prezența co-infecțiilor relevante din punct de vedere clinic pentru analiza Xpert Carba-R.

A fost observat un efect inhibitor pentru 2 dintre cele 5 ținte (NDM și IMP) atunci când o concentrație scăzută a fiecărei ținte a fost prezentă în combinație cu o concentrație ridicată a 1 sau a 2 alte ținte pentru probele testate în matricea de tampon perirectal. Cele 2 ținte (NDM și IMP) au fost testate la o concentrație mai mare ($4x$ LoD) în combinație cu o concentrație ridicată a 1 sau a 2 alte ținte pentru probele din matricea de tampon perirectal. Nu s-a observat niciun efect inhibitor pentru cele 2 ținte (NDM și IMP) la $4x$ LoD în prezența co-infecțiilor relevante din punct de vedere clinic pentru analiza Xpert Carba-R.

Efectul inhibitor competitiv asupra țintelor Carba-R (NDM, IMP, VIM și OXA-48) este abordat în Secțiunea 15, Limitări din prospect.

Tabelul 24. Combinații de bacterii producătoare de carbapenemază testate cu analiza Xpert Carba-R

Combinație
KPC ridicat/NDM ridicat/VIM scăzut
KPC ridicat/NDM ridicat/OXA scăzut
KPC ridicat/NDM ridicat/IMP scăzut
VIM ridicat/OXA ridicat/KPC scăzut
VIM ridicat/OXA ridicat/NDM scăzut
VIM ridicat/OXA ridicat/IMP scăzut
IMP ridicat/KPC scăzut
IMP ridicat/NDM scăzut
IMP ridicat/VIM scăzut
IMP ridicat/OXA scăzut
OXA ridicat/VIM scăzut
VIM ridicat/OXA scăzut
KPC ridicat/NDM scăzut
Negativ

18.5 Substanțe potențial interferente

Performanța analizei Xpert Carba-R a fost evaluată cu 24 de substanțe potențial interferente care pot fi prezente în specimene de tampon rectal și de tampon perirectal. Soluțiile de substanțe potențial interferente (SI) au fost preparate și testate la concentrațiile specificate în Tabelul 25. În acest studiu au fost incluse probe pozitive și negative. Probele pozitive au constat dintr-un amestec de 5 organisme producătoare de carbapenemază care conțin secvențele genice KPC, NDM, VIM, IMP-1 și OXA-48 înșămânțate în matrice de tampon rectal negativ combinat sau în matrice de tampon perirectal negativ combinat la aproximativ $3x$ LoD. Au fost testate 8 probe pozitive replicate per substanță. Probele negative au constat din matrice de tampon rectal negativ combinat sau matrice de tampon perirectal negativ combinat, care nu au fost înșămânțate cu organisme producătoare de carbapenemază. Au fost testate 8 probe pozitive replicate per substanță pentru a determina efectul asupra performanței controlului procesării probelor (SPC). Controalele au constat din probe pozitive și negative fără adăugarea de substanțe interferente. Efectul fiecărei substanțe potențial interferente asupra replicatelor pozitive și negative a fost evaluat comparând valorile pragului de ciclu țintă (Ct) generate în prezența substanței cu valorile Ct de la controalele care nu conțin substanța.

Probele replicate pozitive și negative pentru 22 de substanțe potențial interferente au fost identificate corect folosind analiza Xpert Carba-R. Interferența cu analiza Xpert Carba-R poate fi observată cu sulfat de bariu la $> 0,1\%$ g/v și Pepto-Bismol la $> 0,01\%$ g/v în testele cu probe din matricea de tampon rectal. Consultați Secțiunea 15, Limitări pentru prospect. Probele din matricea de tampon rectal, pozitive pentru un amestec de 5 organisme producătoare de carbapenemază care conțin secvențele genice KPC, NDM, VIM, IMP-1 și OXA-48 care au fost testate cu grăsime fecală la $0,25\%$ g/v, nu au generat niciun rezultat fals negativ; cu toate acestea, au fost observate valori ale pragului de ciclu întârziate pentru ținta VIM. Această potențială interferență în prezența a $0,25\%$ g/v de grăsime fecală este furnizată în secțiunea Limitări din prospect. Interferența cu testul Xpert Carba-R poate fi observată cu sulfat de bariu la $> 0,1\%$ g/v și Pepto-Bismol la $> 0,025\%$ g/v în testele cu probe din matricea de tampon perirectal. Consultați Secțiunea 15, Limitări.

Tabelul 25. Substanțe potențial interferente testate

Substanță/Clasă	Ingredient activ	Concentrație testată
Medicamente antiinflamatoare nesteroidiene	Naproxen	0,25% g/v
Compus pentru imagistică	Sulfat de bariu	0,25% și 0,1% g/v
Antibiotic (uz oral)	Cefalexină	0,25% g/v
Antibiotic (uz oral)	Ciprofloxacina	0,25% g/v
Prezervativ cu lubrifianț spermicid	Nonoxinol-9	1 prezervativ ^a
Creme/unguent/supozitoare	Hidrocortizon	0,25% g/v
Laxativ	Senoside	0,25% g/v
Lipide	Acid stearic/acid palmitic/colesterol (grăsime fecală)	0,25% g/v
Medicamente antidiareice	Clorhidrat de loperamidă/subsalicilat de bismut (Imodium)	0,25% g/v
Medicamente antidiareice	Clorhidrat de loperamidă/subsalicilat de bismut (Kaopectate)	0,25% g/v
Cremă topică	K-Y Jelly	0,25% g/v
Antiacide	Carbonat de calciu/hidroxid de aluminiu/hidroxid de magneziu/simeticonă (Lapte de Magnezie)	0,25% g/v
Clisme	Ulei mineral	0,25% g/v
Antibiotic (topic)	Polimixină B/Neomicină/Bacitracină (Neosporină)	0,25% g/v
Anti-fungică/anti-mâncărime vaginală	Nistatin	0,25% g/v
Antiacid	Famotidină (Pepcid)	0,25% g/v
Medicamente antidiareice	Clorhidrat de loperamidă/subsalicilat de bismut (Pepto-Bismol)	0,25%, 0,1%, 0,05%, 0,025%, 0,01% g/v
Cremă topică	Vaselină rectificată	0,25% g/v

Tabelul 25. Substanțe potențial interferente testate (Continuare)

Substanță/Clasă	Ingredient activ	Concentrație testată
Creme/unguente anti-hemoroizi	Fenilefrină (Preparation H)	0,25% g/v
Reductor de acid; antiacid	Omeprazol (Prilosec)	0,25% g/v
Clisme	Clismă salină	0,25% g/v
Antiacid	Cimetidină (Tagamet)	0,25% g/v
Anti-fungică/anti-mâncărime vaginală	Benzocaină, resorcinol (Vagisil)	0,25% g/v
Prosoape umede	Clorură de benzalconiu, etanol (umede)	1 bucată ^b

a. Un prezervativ adăugat la 40 ml de matrice tampon.

b. O bucată [12,7 cm (5 inci) x 19 cm (7-1/2 inci)] adăugată la 40 ml de matrice tampon.

18.6 Studiu privind contaminarea prin transfer

Un studiu a fost efectuat pentru a demonstra că cartușele GeneXpert de unică folosință, autonome împiedică contaminarea prin transfer a probelor negative testate după probe puternic pozitive. Studiul a constat dintr-o probă negativă, procesată în același modul GeneXpert, imediat după o probă puternic pozitivă. Proba puternic pozitivă este compusă din celule de *E. coli* inactivate care conțin o plasmidă cu o inserție constând dintr-o oligonucleotidă sintetică a secvențelor de amplicon din cele 5 gene de analiză țintă Xpert Carba-R (țintele KPC, NDM, VIM, IMP și OXA-48). Celulele pozitive au fost diluate în matrice de tampon rectal negativ combinat și matrice de tampon perirectal la o concentrație de 1×10^6 CFU/ml. Schema de testare a fost repetată de 25 de ori pe 2 module GeneXpert pentru un total de 102 teste (25 de probe puternic pozitive per modul și 26 de probe negative per modul) pentru matricea de tampon rectal și matricea de tampon perirectal. La toate cele 50 de probe pozitive toate țintele Xpert Carba-R au fost raportate corect ca **DETECTATE (DETECTED)**, iar la toate cele 52 de probe negative toate țintele Xpert Carba-R au fost raportate corect ca **NEDETECTATE (NOT DETECTED)** pentru fiecare tip de matrice testat.

19 Reproducibilitate

19.1 Studiu privind matricea de tampon rectal și perirectal

Reproducibilitatea analizei Xpert Carba-R a fost evaluată folosind 2 grupuri de 11 probe, unul preparat în matrice de tampon rectal negativ combinat și unul preparat în matrice de tampon perirectal negativ combinat. 2 operatori din fiecare dintre cele 3 centre de studiu au testat 1 grup de 11 probe în replicare de 4 pe zi, timp de 6 zile de testare (11 probe x 2 replicare x 2 ori/zi x 6 zile x 2 operatori x 3 centre). S-au folosit 3 loturi de cartușe pentru analiza Xpert Carba-R la fiecare dintre cele 3 centre de testare. Analiza Xpert Carba-R a fost efectuată conform procedurii de testare Xpert Carba-R. Rezultatele sunt rezumate în Tabelul 26.

Tabelul 26. Rezumatul rezultatelor de reproducibilitate – Acord procentual, matrice de tampon rectal și perirectal

Probă	Matrice ^a	Centrul 1			Centrul 2			Centrul 3			Acord procentual total după probă
		Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	
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)
IMP Poz. mod.	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)
IMP Slab 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)
VIM Poz. mod.	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)
VIM Slab 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)
NDM Poz. mod.	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)
NDM Slab 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)

Tabelul 26. Rezumatul rezultatelor de reproductibilitate – Acord procentual, matrice de tampon rectal și perirectal (Continuare)

Probă	Matrice ^a	Centrul 1			Centrul 2			Centrul 3			Acord procentual total după probă
		Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	
KPC Poz. mod.	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 Slab 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 Poz. mod.	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 Slab 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 Poz. mod.	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 Slab 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 Poz. mod.	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 Slab 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 Poz. mod.	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 Slab 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 Poz. mod.	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 Slab 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 Poz. mod.	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 Slab 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=rectal, PR=perirectal

Reproductibilitatea analizei Xpert Carba-R a fost, de asemenea, evaluată în ceea ce privește semnalul de fluorescență exprimat în valori Ct pentru fiecare țintă detectată. Media, abaterea standard (SD) și coeficientul de variație (CV) între centre, între loturi, între zile, între operatori și în cadrul aceleiași analize pentru fiecare membru al grupului sunt prezentate în Tabelul 27.

Tabelul 27. Rezumatul datelor de reproductibilitate, Matrice de tampon rectal și perirectal

Probă	Matrice ^a	Canal analiză (analit)	N ^b	Ct mediu	Între centre		Între loturi		Între zile		Între operatori		În cadrul aceleiași analize		Total	
					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
IMP Poz. mod.	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
IMP Slab poz.	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
VIM Poz. mod.	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
VIM Slab poz.	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
NDM Poz. mod.	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
NDM Slab poz.	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
KPC Poz. mod.	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
KPC Slab poz.	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
OXA-48 Poz. mod.	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
OXA-48 Slab poz.	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
IMP Poz. mod.	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
IMP Slab poz.	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
VIM Poz. mod.	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
VIM Slab poz.	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
NDM Poz. mod.	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
NDM Slab poz.	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
KPC Poz. mod.	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

Tabelul 27. Rezumatul datelor de reproductibilitate, Matrice de tampon rectal și perirectal (Continuare)

Probă	Matrice ^a	Canal analiză (analit)	N ^b	Ct mediu	Între centre		Între loturi		Între zile		Între operatori		În cadrul aceleiași analize		Total	
					SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
KPC Slab poz.	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
OXA-48 Poz. mod.	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
OXA-48 Slab poz.	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=rectal, PR=perirectal

b. Rezultate cu valori Ct diferite de zero din totalul de 144.

19.2 Studiu privind izolatele bacteriene

Reproductibilitatea analiza Xpert Carba-R a fost evaluată utilizând un grup de 13 probe bacteriene care au inclus: 2 organisme diferite pentru fiecare dintre cele 5 ținte genice de rezistență detectate de analiza Xpert Carba-R; 2 probe stocate care au inclus 2 ținte genice; și 1 probă stocată negativă pentru toate cele 5 ținte genice. 2 operatori de la fiecare dintre cele 3 centre de studiu au testat un grup de 13 probe în replicate de 4 pe zi. Fiecare probă a fost utilizată pentru a realiza două suspensii echivalente cu 0,5 McFarland din care au fost testate 2 replicate pe parcursul a 6 zile de testare (13 probe x 2 replicate x 2 ori/zi x 6 zile x 2 operatori x 3 centre). S-au folosit 3 loturi de cartușe pentru analiza Xpert Carba-R la fiecare dintre cele 3 centre de testare. Analiza Xpert Carba-R a fost efectuată conform procedurii de testare Xpert Carba-R. La finalizarea testării, au fost excluse 25 de teste rulate pe un modul al instrumentului, rezultând un total de 1847 de probe incluse în analize. Rezultatele sunt rezumate în Tabelul 28.

Tabelul 28. Rezumatul rezultatelor privind reproductibilitatea – Acord procentual, izolate bacteriene

Gena rezistenței (nr. probă)	Centrul 1			Centrul 2			Centrul 3			Acord procentual total după probă
	Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	
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)
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)

Tabelul 28. Rezumatul rezultatelor privind reproductibilitatea – Acord procentual, izolate bacteriene (Continuare)

Gena rezistenței (nr. probă)	Centrul 1			Centrul 2			Centrul 3			Acord procentual total după probă
	Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	Op 1	Op 2	Centru	
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)

Reproductibilitatea analizei Xpert Carba-R a fost, de asemenea, evaluată în ceea ce privește semnalul de fluorescență exprimat în valori Ct pentru fiecare țintă detectată. Media, abaterea standard (SD) și coeficientul de variație (CV) între centre, între loturi, între zile, între operatori și în cadrul aceleiași analize pentru fiecare membru al grupului sunt prezentate în Tabelul 29.

Tabelul 29. Rezumatul datelor privind reproductibilitatea – Izolate bacteriene

Gena rezistenței (nr. probă)	Canal analiză (analit)	N ^a	Între centre		Între loturi		Între zile		Între operatori		În cadrul aceleiași analize		Total	
			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. Rezultate cu valori Ct diferite de zero din totalul de 144.

20 Referințe

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 Locațiile sediului central al Cepheid

Sediul central

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Statele Unite
Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sediul din Europa

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

22 Asistență tehnică

Înainte de a contacta Asistență tehnică Cepheid, colectați următoarele informații:

- Denumire produs
- Număr lot
- Număr de serie al instrumentului
- Mesaje de eroare (dacă există)
- Versiunea software și, dacă este cazul, numărul etichetei serviciului computerizat



















Date de contact

Statele Unite
Telefon: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

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

Informațiile de contact pentru toate birourile de Asistență tehnică Cepheid sunt disponibile pe site-ul nostru web: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tabel de simboluri

Simbol	Semnificație
	Număr de catalog
	Dispozitiv medical de diagnosticare In vitro
	A nu se reutiliza
	Reprezentant autorizat în Uniunea Europeană
	Reprezentant autorizat în Elveția
	Importator
	Cod lot
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Atenție
	Producător
	Țara de fabricație
	Conține suficient pentru <n> teste
	Control
	Data de expirare
	Limitarea temperaturii
	Riscuri biologice
	Avertizare
	Marcaj CE – Conformitate Europeană



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



Cepheid Europe S.A.S.
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Franța
Tel: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301



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



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

