

Xpert[®] vanA/vanB

REF GXVANA/B-CE-10

Trademarks, Patents and Copyright Statements

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

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

© 2011-2023 Cepheid.

Obaveštenja o zaštitnim znakovima, patentima i autorskom pravu

Cepheid®, logotip Cepheid, GeneKspert® i Kspert® su zaštitni znaci kompanije Cepheid, registrovani u SAD i drugim zemljama.

KUPOVINA OVOG PROIZVODA PRENOSI KUPCU NEPRENOSIVO PRAVO NA KORIŠĆENJE U SKLADU SA OVIM UPUTSTVOM ZA UPOTREBU. NIKAKVA DRUGA PRAVA SE NE PRENOSE IZRIČITO, IMPLIKACIJOM ILI ESTOPPELOM. DALJE, KUPOVINOM OVOG PROIZVODA NE DAJU NIKAKVO PRAVO PREPRODAJE.

© 2011-2023 Цепхейд.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden
Product of Sweden

Xpert® vanA/vanB

Samo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

1 Vlasničko ime

Xpert® vanA/vanB

2 Opšteprihvaćeni ili uobičajeni naziv

Xpert vanA/vanB test

3 Predviđena upotreba

Cepheid Xpert vanA/vanB test, koji se izvodi na GeneXpert® sistemu instrumenata je kvalitativni *in vitro* dijagnostički test, osmišljen za brzu detekciju gena za rezistenciju na vankomicin (*vanA/vanB*) iz rektalnih i perianalnih uzoraka briseva kod odraslih pacijenata, koji su u riziku za intestinalnu kolonizaciju bakterijama rezistentnim na vankomicin. Test koristi automatizovanu lančanu reakciju polimeraze u realnom vremenu (PCR) za detekciju *vanA* i *vanB* gena koji mogu biti povezani sa enterokokama rezistentnim na vankomicin. (VRE). Xpert vanA/vanB test je namenjen kao pomoćno sredstvo u prepoznavanju, prevenciji i kontroli kolonizacije mikroorganizmima rezistentnim na vankomicin u bolničkom okruženju. Xpert vanA/vanB test nije namenjen za dijagnozu VRE, niti kao smernica za kontrolu lečenja VRE infekcija. Konkomitantne kulture su neophodne samo za oporavak mikroorganizama za epidemiološku tipizaciju, testiranje osetljivosti i za dalju potvrdnu identifikaciju VRE.

4 Sažetak i objašnjenje

Enterokoke otporne na vankomicin (VRE) postale su glavni uzrok nozokomijalnih infekcija, posebno u jedinicama intenzivne nege (ICU). Prema Nacionalnom istraživanju nozokomijalnih infekcija br. 1 SAD iz 2004. godine, enterokoke čine više od jedne trećine infekcija u ICU. Infekcije uzrokovane sojem VRE povezane su sa većim morbiditetom, mortalitetom, dužinom boravka u bolnici i bolničkim troškovima. Rizik od kolonizacije soja VRE pripisuje se upotrebi više antimikrobnih klasa, uključujući glikopeptide, cefalosporine treće generacije i antibiotike sa snažnim antianaerobnim delovanjem. Do širenja soja VRE dolazi putem kontakta sa kolonizovanim ili inficiranim osobama unutar zdravstvene ustanove. Stoga mnoge ustanove uvode programe aktivnog nadzora kako bi se identifikovali i na odgovarajući način izolovali nosioci soja VRE radi smanjenja prenosa patogena. Skrining programima aktivnog nadzora pacijenti se testiraju putem perianalnih ili rektalnih briseva na prijemu jednom nedeljno tokom boravka u ICU nakon primanja antimikrobne terapije i na otpustu.

5 Princip postupka

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

Xpert vanA/vanB test obuhvata reagense za detekciju *vanA* i *vanB* gena za rezistenciju, kao i kontrolu obrade uzorka (SPC), radi kontrole odgovarajuće obrade ciljnih bakterija i nadzora prisustva inhibitora u PCR reakciji. Kontrola provere probe (PCC) potvrđuje rehidraciju reagensa, punjenje PCR epruvete u patroni, integritet probe i stabilnost boje.

Prajmeri i probe u Xpert vanA/vanB testu detektuju sekvence u genima za rezistenciju na vankomicin/teikoplanin (vanA, vanB).

6 Reagensi i instrumenti

6.1 Priloženi materijal

Komplet Xpert vanA/vanB testa sadrži dovoljno reagenasa za obradu 10 uzoraka ili uzoraka za kontrolu kvaliteta.

Komplet sadrži sledeće:

Xpert vanA/vanB test patrone sa integrisanim reakcionim epruветama	10
Zrno 1, 2 i 3 (osušeno zamrzavanjem)	1 po patroni
Reagens 1	3,0 ml po patroni
Reagens 2 (natrijum-hidroksid)	3,0 ml po patroni

Reagens za uzorke

10 x 1,7 ml

CD

1 po kompletu

- Datoteke za definiciju analize (ADF)
- Uputstva za uvoz ADF-a u GX softver
- Uputstvo za upotrebu (uputstvo u pakovanju)

Напомена

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

Напомена

Goveđi serumski albumin (BSA) u zrnima ovog proizvoda napravljen je isključivo od goveđe plazme poreklom iz Sjedinjenih Država. Proizvodnja BSA je takođe obavljena u Sjedinjenim Državama. Životinjama nije davan nijedan protein preživara ili drugi proteini životinjskog porekla; životinje su prošle ante- i post-mortem testiranje. Tokom obrade nije bilo mešanja materijala sa drugim materijalima životinjskog porekla.

6.2 Skladištenje i rukovanje

- Skladištite Xpert vanA/vanB patrone i reagense na temperaturi od 2 – 28°C.
- Nemojte koristiti reagense i patrone kojima je istekao rok trajanja.
- Nemojte otvarati poklopac patrone dok niste spremni za testiranje.
- Iskoristite patronu i reagense u roku od 30 minuta nakon otvaranja poklopca.
- Nemojte koristiti nijedan reagens koji je postao zamućen ili je promenio boju.


7 Materijali koji su potrebni, ali nisu priloženi

- GeneXpert Dx sistem ili GeneXpert Infinity sistem (kataloški broj se razlikuje u zavisnosti od konfiguracije): GeneXpert instrument, računar sa zaštićenim GeneXpert softverom verzije 1.6b ili novijom, ručni bar-kod čitač i priručnik za operatera
- Štampač: Ako je štampač neophodan, kontaktirajte Cepheid korisničku podršku da dogovorite kupovinu preporučenog štampača.
- Vorteks mešalica
- Jednokratne, sterilne pipete za prenos
- Cepheid medicinsko sredstvo za prikupljanje uzorka (Cepheid broj dela 900-0370)

8 Upozorenja i mere predostrožnosti

- Tretirajte sve biološke uzorke, uključujući i korišćene patrone, kao da mogu da prenesu infektivne agense. Kako često nije moguće znati šta bi moglo biti infektivno, prema svim biološkim uzorcima se treba odnositi u skladu sa standardnim merama predostrožnosti. Smernice za rukovanje uzorcima dostupne su u američkim Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde.^{8,9}
- Pridržavajte se sigurnosnih procedura vaše ustanove za rad sa hemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Xpert vanA/vanB test ne pruža rezultate osetljivosti. Potrebno je dodatno vreme za kulturu i obavljanje testiranja osetljivosti.
- Nemojte zamenjivati Xpert vanA/vanB reagense sa drugim reagensima.
- Nemojte otvarati poklopac patrone Xpert vanA/vanB testa osim kada dodajete uzorak i reagens, ili kada obavljate ponovno testiranje.
- Nemojte koristiti patronu koja vam je ispala ili koja je protešena nakon dodavanja uzorka.
- Nemojte koristiti patronu čija je reakciona epruveta oštećena.
- Svaka jednokratna Xpert vanA/vanB patrona koristi se za obradu jednog testa. Nemojte ponovo koristiti iskorišćene patrone.
- Biološke uzorke, sredstva za prenos i korišćene patrone treba smatrati sposobnim da prenose infektivne agense i zahtevaju standardne mere predostrožnosti. Pridržavajte se procedura za pravilno odlaganje iskorišćenih patrona i neiskorišćenih reagenasa u vašoj ustanovi. Ovi materijali mogu imati karakteristike hemijski opasnog otpada i zahtevaju posebne nacionalne ili regionalne procedure za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne daju jasne smernice o pravilnom odlaganju, biološke uzorke i iskorišćene patrone treba odlagati prema smernicama WHO (SZO, Svetska zdravstvena organizacija) za rukovanje i odlaganje medicinskog otpada.
- Čuvajte Xpert vanA/vanB komplet na temperaturi od 2 – 28°C.
- Nemojte otvarati poklopac patrone dok niste spremni za testiranje.

9 Opasnosti od hemikalija^{13,14}

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

10 Prikupljanje, transport i skladištenje uzorka

Da biste pribavili odgovarajući uzorak, pažljivo pratite uputstva u ovom odeljku.

Za rektalne uzorke:

1. Prikupite uzorak brisa pomoću Cepheid medicinskog sredstva za prikupljanje uzorka (Cepheid broj dela 900-0370).
2. Pažljivo uvedite dvostruki bris približno 2,5 cm iza analnog sfinktera (tako da vrh više ne bude vidljiv) i blago zarotirajte 3 puta kako biste obezbedili uniformnost oba brisa.
3. Vratite briseve nazad u kontejner za uzorke.
4. Obeležite ID-om uzorka i pošaljite u laboratoriju.
5. Čuvajte uzorak brisa na temperaturi od 2 – 8°C. Uzorak brisa je stabilan do 5 dana kad se čuva na temperaturi od 2 – 8°C.

Za perianalne uzorke:

1. Prikupite uzorak brisa pomoću Cepheid medicinskog sredstva za prikupljanje uzorka (Cepheid broj dela 900-0370).
2. Razdvojite gluteuse kako biste izložili perianalnu regiju, zatim pomoću oba brisa u potpunosti prebrišite perianalnu površinu kako biste prebrisali što veću površinu.
3. Vratite briseve nazad u kontejner za uzorke.
4. Obeležite ID-om uzorka i pošaljite u laboratoriju.
5. Čuvajte uzorak brisa na temperaturi od 2 – 8°C. Uzorak brisa je stabilan do 5 dana kad se čuva na temperaturi od 2 – 8°C.

11 Postupak

11.1 Priprema patrone

Важно Započnite test u roku od 30 minuta od dodavanja reagensa za uzorke u patronu.

Za rektalne/perianalne briseve:

Напомена Потребан је само један брис.

Da biste dodali uzorak u patronu (Xpert vanA/vanB):

1. Izvadite patronu i reagens za uzorak iz kompleta.
 2. Izvadite jedan bris iz transportnog kontejnera.
 3. Uvedite bris u epruvetu koja sadrži reagens za uzorak.
-

Напомена Koristite sterilnu gazu kako biste rizike od kontaminacije sveli na minimum.

4. Držite bris za telo blizu ivice epruvete, podignite bris nekoliko milimetara sa dna epruvete i pritisnite telo brisa o ivicu epruvete kako biste ga polomili. Uverite se da je bris dovoljno kratak što omogućava da se poklopac čvrsto zatvori.
5. Zatvorite poklopac i promešajte u vorteks mešalici pri velikoj brzini u trajanju od 10 sekundi.
6. Otvorite poklopac patrone. Pomoću sterilne pipete za prenos, prenesite celokupan sadržaj reagensa za uzorke u komoru za uzorke patrone Xpert vanA/vanB testa.
7. Zatvorite poklopac patrone.



Slika 1. Xpert vanA/vanB patrona (pogled odozgo)

11.2 Započinjanje testa

Важно Pre započinjanja testa, uverite se da je datoteka za definiciju analize (ADF) za Xpert vanA/vanB test uvezena u softver.

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za započinjanje testa. Za detaljna uputstva, pogledajte *GeneXpert Dx sistemski priručnik za operatera* ili *GeneXpert Infinity sistemski priručnik za operatera*, u zavisnosti od modela koji se koristi.

1. Uključite GeneXpert instrument:

- Ako koristite GeneXpert Dx instrument, prvo uključite GX Dx instrument, a zatim uključite računar. Softver GeneXpert će se automatski pokrenuti ili će možda biti potrebno dvaput kliknuti na ikonu prečice za GeneXpert Dx softver na Windows® radnoj površini.

ili

- Ako koristite GeneXpert Infinity instrument, uključite instrument. GeneXpert softver će se automatski pokrenuti ili će možda biti potrebno dvaput kliknuti na ikonu prečice za Xpertise softver na Windows radnoj površini.

2. Prijavite se na softver GeneXpert sistema instrumenata koristeći svoje korisničko ime i lozinku.

3. U prozoru GeneXpert sistema, kliknite na **Kreiraj test (Create Test)** (GeneXpert Dx) ili **Nalozi (Orders) i Nalog za test (Order Test)** (Infinity).

4. Skenirajte ili unesite ID pacijenta (Patient ID) (opciono). Ako unosite ID pacijenta (Patient ID), pobrinite se da ID pacijenta (Patient ID) bude tačno upisan. ID pacijenta (Patient ID) je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru Prikaz rezultata (View Results).

5. Skenirajte ili unesite ID uzorka (Sample ID). Ako unosite ID uzorka (Sample ID), pobrinite se da ID uzorka (Sample ID) bude tačno unet. ID uzorka je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru Prikaz rezultata (View Results) i u svim izveštajima. Pojavljuje se dijalog za skeniranje bar-koda patrone.

6. Skenirajte bar-kod na patroni Xpert vanA/vanB testa. Korišćenjem informacija sa bar-koda, softver automatski popunjava sledeća polja: Izbor testa (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), serijski broj patrone (Cartridge SN) i datum isteka roka (Expiration Date).

7. Kliknite na **Započni test (Start Test)** (GeneXpert Dx) ili **Pošalji (Submit)** (Infinity). Ukucajte vašu lozinku u okviru za dijalog koji se pojavi.

8. Kod GeneXpert Infinity sistema, patronu stavite na pokretnu traku. Patrona će se automatski ubaciti, test će se pokrenuti, a iskorišćena patrona će biti postavljena u kontejner za otpad.

ili

Za GeneXpert Dx instrument:

- a) Otvorite vrata modula instrumenta na kojima trepće zeleno svetlo i ubacite patronu.
- b) Zatvorite vrata. Test započinje i zeleno svetlo prestaje da trepće. Kada je test završen, svetlo se gasi.
- c) Sačekajte dok sistem ne otpusti bravu vrata pre nego što otvorite vrata modula i izvadite patronu.

- d) Korišćene patrone treba baciti u odgovarajuće kontejnere za otpad uzoraka u skladu sa standardnom praksom vaše ustanove.

12 Prikazivanje i štampanje rezultata

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za prikazivanje i štampanje rezultata. Za detaljnija uputstva o prikazivanju i štampanju rezultata, pogledajte *GeneXpert Dx sistemski priručnik za operatera* ili *GeneXpert Infinity sistemski priručnik za operatera*, u zavisnosti od instrumenta koji se koristi.

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

13 Kontrola kvaliteta

13.1 Ugrađene kontrole kvaliteta

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

- **Kontrola obrade uzorka (SPC)** — Obezbeđuje da je uzorak pravilno obrađen. SPC sadrži spore *Bacillus globigii* u vidu kolača sa suvim sporama koji je uključen u svaku patronu, kako bi se potvrdila odgovarajuća obrada uzorka bakterija. SPC potvrđuje da se liza vankomicin-rezistentnih bakterija dogodila ako su mikroorganizmi prisutni i potvrđuje da je obrada uzorka odgovarajuća. Pored toga, ova kontrola detektuje inhibiciju PCR analize u realnom vremenu povezanu sa uzorkom. SPC treba da bude pozitivna u negativnom uzorku, a može biti negativna ili pozitivna u pozitivnom uzorku. SPC je uspešna ako su ispunjeni kriterijumi prihvatljivosti.
- **Kontrola provere probe (PCC)** — Pre početka PCR reakcije, GeneXpert® Dx sistem meri fluorescentni signal sa proba kako bi nadgledao rehidrataciju zrna, punjenje reakcione epruvete, integritet probe i stabilnost boje. Provera probe je uspešna ako ispunjava dodeljene kriterijume prihvatljivosti.

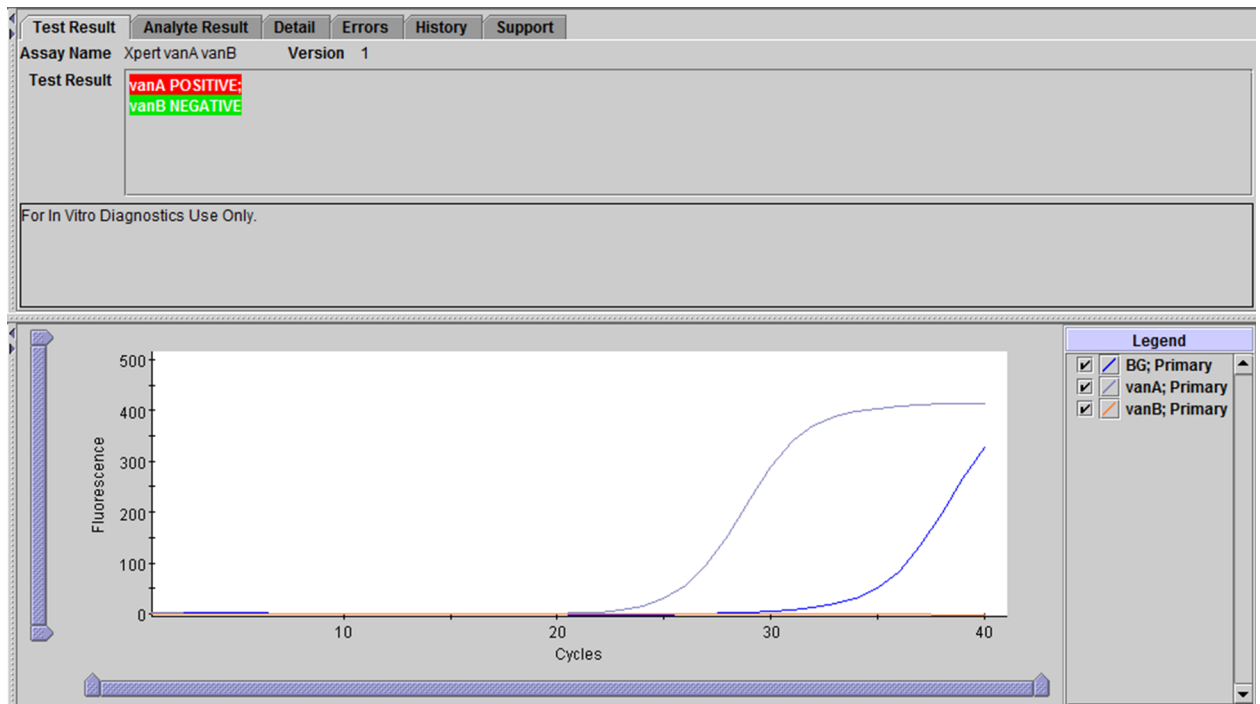
14 Tumačenje rezultata

Rezultati su interpolirani putem GeneXpert sistema iz izmerenih fluorescentnih signala i ugrađenih algoritama za izračunavanje i biće prikazani u prozoru Prikaz rezultata (View Results) (Slika 2, Slika 3, Slika 4, and Slika 5). Mogući rezultati su:

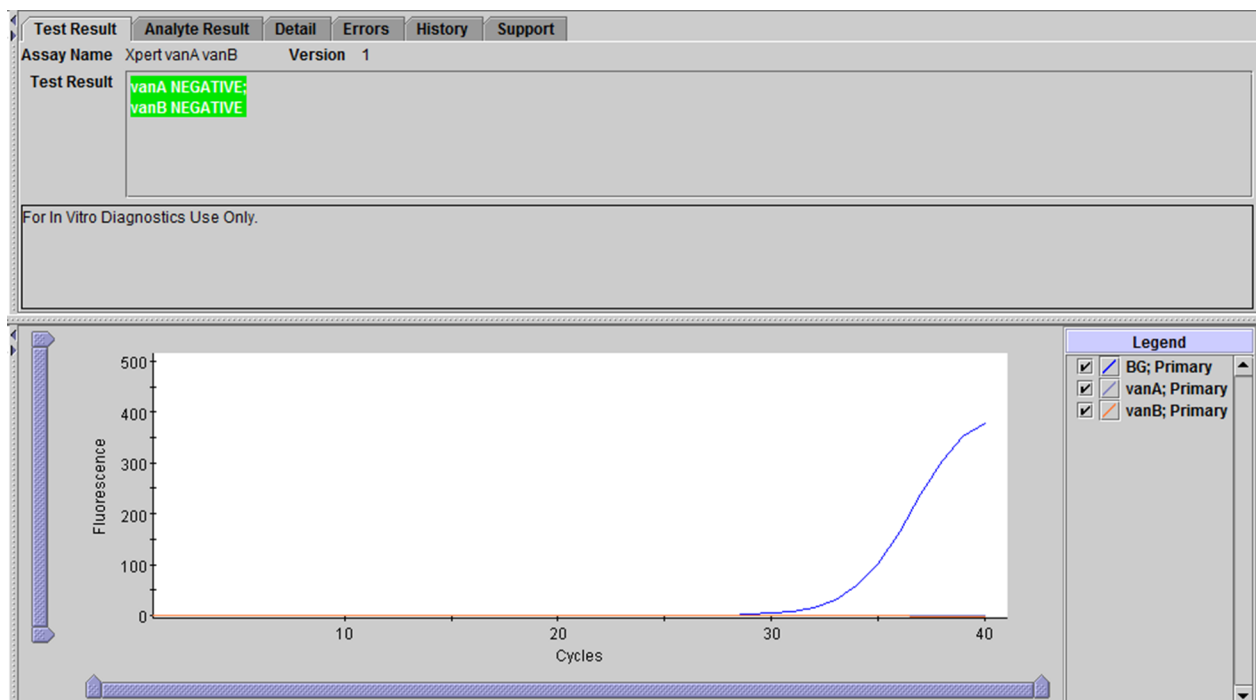
Tabela 1. Rezultati i tumačenje

Rezultat	Tumačenje
<p><i>vanA</i> POZITIVNO (<i>vanA</i> POSITIVE)</p> <p>Slika 2</p>	<p><i>vanA</i> ciljana DNK je detektovana.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanA</i> POZITIVNO (<i>vanA</i> POSITIVE)—<i>vanA</i> cilj ima Ct u važećem opsegu i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. • SPC—NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)); SPC je ignorisana jer amplifikacija <i>vanA</i> može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe—USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
<p><i>vanB</i> POZITIVNO (<i>vanB</i> POSITIVE)</p> <p>Slika 4</p>	<p><i>vanB</i> ciljana DNK je detektovana.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanB</i> POZITIVNO (<i>vanB</i> POSITIVE)—<i>vanB</i> cilj ima Ct u važećem opsegu i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. • SPC—NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)); SPC je ignorisana jer amplifikacija <i>vanB</i> može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe—USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
<p><i>vanA</i> POZITIVNO (<i>vanA</i> POSITIVE), <i>vanB</i> POZITIVNO (<i>vanB</i> POSITIVE)</p>	<p><i>vanA</i> i <i>vanB</i> ciljane DNK je detektovana.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanA</i> POZITIVNO (<i>vanA</i> POSITIVE)—<i>vanA</i> cilj ima Ct u važećem opsegu i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. • <i>vanB</i> POZITIVNO (<i>vanB</i> POSITIVE)—<i>vanB</i> cilj ima Ct u važećem opsegu i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. • SPC—NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)); SPC je ignorisana jer amplifikacija <i>vanA</i> i/ili <i>vanB</i> može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
<p>NEGATIVNO (NEGATIVE)</p> <p>Slika 3</p>	<p><i>vanA</i> i <i>vanB</i> ciljane DNK nije detektovana. SPC ispunjava kriterijume prihvatljivosti.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NEGATIVNO (NEGATIVE)—Nijedna <i>vanA</i> ili <i>vanB</i> ciljane DNK nije detektovana. • SPC — USPEŠNO (PASS); SPC ima Ct u važećem opsegu i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. • Provera probe—USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.

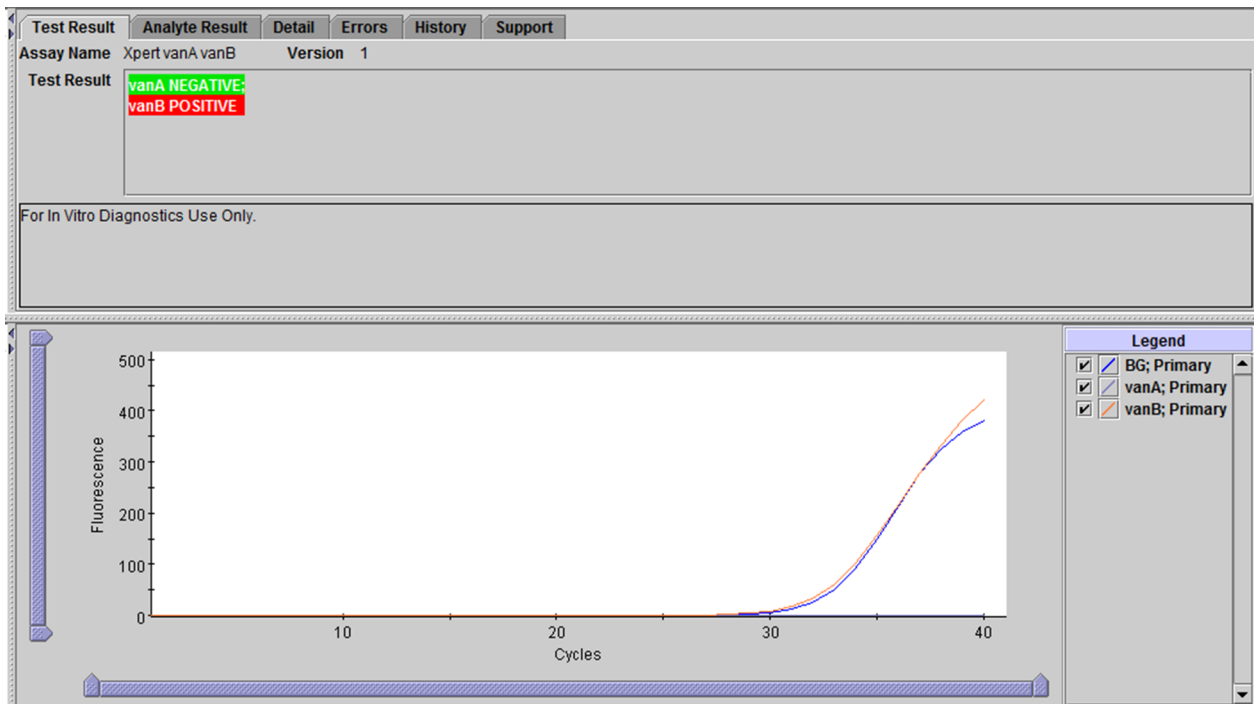
Rezultat	Tumačenje
NEVAŽEĆI (INVALID)	<p>Prisustvo ili odsustvo <i>vanA/vanB</i> ne može biti određeno, ponovite test u skladu sa uputstvima u odeljku Postupak ponovnog testiranja u nastavku. SPC ne ispunjava kriterijume prihvatljivosti, uzorak nije pravilno obrađen, ili je PCR inhibirana.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● NEVAŽEĆI (INVALID)— prisustvo ili odsustvo <i>vanA</i> ili <i>vanB</i> DNK ne može biti određeno. ● SPC—NEUSPEŠNO (FAIL); rezultati <i>vanA</i> i <i>vanB</i> cilja su negativni, a SPC Ct nije u važećem opsegu i krajnja tačka je ispod minimalnog podešavanja. ● Provera probe—USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
GREŠKA (ERROR) Slika 5	<p>Prisustvo ili odsustvo <i>vanA/vanB</i> ne može biti određeno, ponovite test u skladu sa uputstvima u odeljku Postupak ponovnog testiranja u nastavku. Kontrola provere probe je neuspešna a razlog je verovatno nepravilno napunjena reakciona epruveta, detekcija problema u integritetu probe, ili su prekoračena maksimalna ograničenja za pritisak.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● <i>vanA</i>—NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● <i>vanB</i>—NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● SPC—NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● Provera probe—NEUSPEŠNO* (FAIL); svi ili jedan od rezultata provere probe je neuspešan ● *Ako je provera probe uspešna, greška je nastala usled kvara komponente sistema.
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	<p>Prisustvo ili odsustvo <i>vanA/vanB</i> ne može biti određeno, ponovite test u skladu sa uputstvima u odeljku Postupak ponovnog testiranja u nastavku. Nije prikupljeno dovoljno podataka da bi se dobio rezultat testa (na primer, operater je zaustavio test koji je bio u toku).</p> <ul style="list-style-type: none"> ● <i>vanA</i>—NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● <i>vanB</i>—NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● SPC—NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● Provera probe—NP (nije primenjivo) (NA (not applicable))



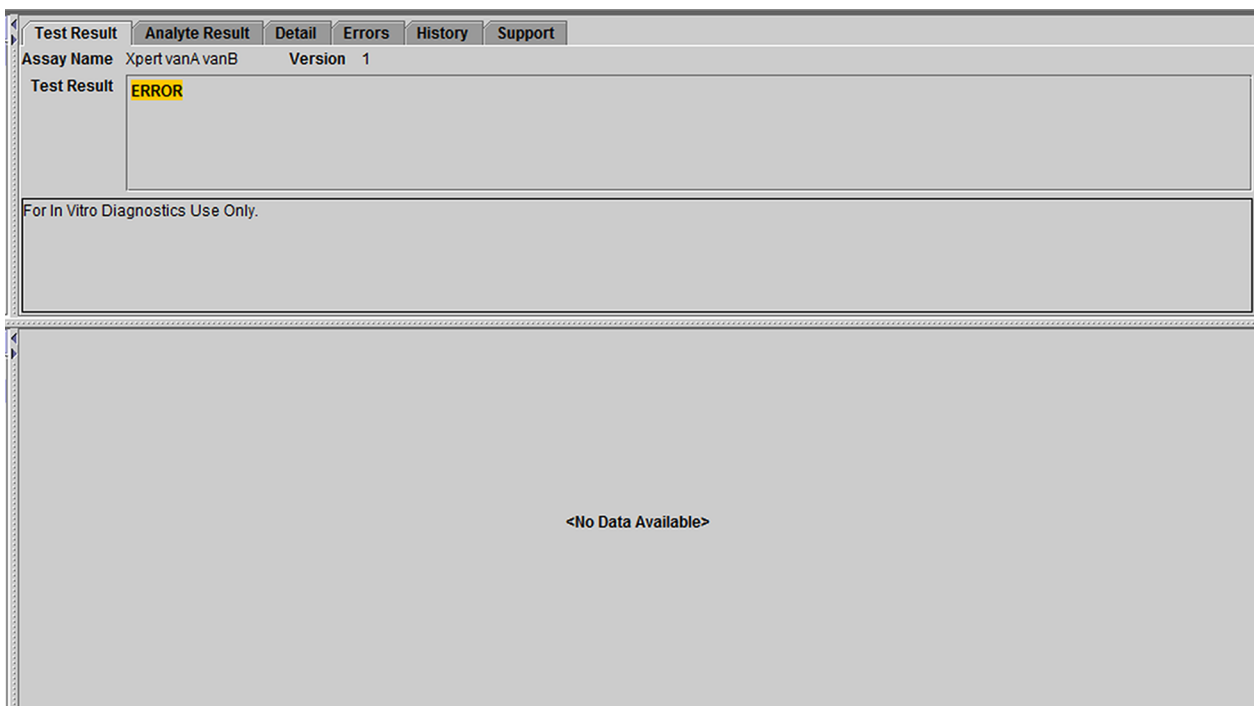
Slika 2. Primer vanA pozitivnog rezultata i vanB negativnog rezultata



Slika 3. Primer vanA i vanB negativnog rezultata



Slika 4. Primer vanA negativnog rezultata i vanB pozitivnog rezultata



Slika 5. Primer rezultata Greška

15 Ponovljeni testovi

15.1 Razlozi za ponavljanje testa

Ako se desi bilo koji od dolenađenih rezultata testa, ponovite test u skladu sa uputstvima u sledećem odeljku pod nazivom Odeljak 15.2.

NEVAŽEĆI (INVALID) rezultat ukazuje na neuspeh SPC kontrole. Uzorak nije pravilno obrađen ili je PCR inhibiran.

Rezultat **GREŠKA (ERROR)** ukazuje na to da je kontrola provere probe neuspešna i da je analiza obustavljena, moguće usled nepravilnog punjenja reakcione epruvete, ili je detektovan problem sa integritetom reagensa probe, ili jer su prekoračena maksimalna ograničenja za pritisak.

NEMA REZULTATA (NO RESULT) znači da nije prikupljeno dovoljno podataka. Na primer, operater je zaustavio test dok je on bio u toku.

15.2 Postupak ponovnog testiranja

Za ponovno testiranje u roku od 3 sata za neodređeni rezultat, koristite novu Xpert *vanA/vanB* patronu (nemojte ponovo koristiti istu patronu) i novu bočicu sa reagensom za uzorak. Prenesite celokupan preostali sadržaj iz komore S za uzorke u novi reagens za uzorak. Promešajte i dodajte u vorteks mešalicu celokupan sadržaj reagensa za uzorak u komoru za uzorke nove Xpert *vanA/vanB* patrone.

16 Ograničenja

- Performanse Xpert *vanA/vanB* testa potvrđene su samo pomoću postupaka navedenih u ovom uputstvu za upotrebu. Modifikacije ovih postupaka mogu izmeniti performanse testa. Rezultate Xpert *vanA/vanB* testa treba tumačiti zajedno sa ostalim laboratorijskim i kliničkim podacima dostupnim lekaru.
- Pogrešni rezultati testa se mogu javiti usled nepravilnog prikupljanja uzorka; nepoštovanja preporučenog načina za prikupljanje uzorka, rukovanja i postupaka čuvanja; usled tehničke greške; zamene uzoraka; ili usled niskog broja mikroorganizama u uzorku, koje test detektuje. Da bi se izbegli pogrešni rezultati, neophodno je poštovanje uputstava u ovom prilogu.
- Zbog toga što detekcija VRE zavisi od broja mikroorganizama prisutnih u uzorku, pouzdani rezultati zavise od pravilnog prikupljanja uzorka, rukovanja i čuvanja.
- Ponovna obrada Xpert *vanA/vanB* testa kad su rezultati **NEVAŽEĆI (INVALID)**, **GREŠKA (ERROR)** ili **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** treba da zavisi od prakse i politike svake ustanove. Alternativni postupci treba da budu dostupni. Za kultivisanje, preostale uzorke briseva treba postaviti u odgovarajuće transportne sisteme i kultivisati u roku od 4 dana.
- Pozitivan rezultat testa ne ukazuje nužno na prisustvo vijabilnih mikroorganizama. Međutim, pretpostavlja se prisustvo VRE.
- Pozitivni Xpert *vanA/vanB* rezultati za *vanB* u odsustvu *vanA* mogu se javiti usled prisustva drugih mikroorganizama koji nisu VRE. Preporučuje se obavljanje potvrde kulturom na ovim mikroorganizmima.
- Kao što je opisano u literaturi, mogu se pronaći neke aerobne i anaerobne bakterije koje sadrže *vanB* gen^{10,11,12}, a koje bi bile detektovane ovom analizom, međutim, klinički značaj takvih nalaza nije poznat. Predloženo je da anaerobne bakterije pozitivne na *vanB* gen mogu predstavljati rezervoar determinanti rezistencije na vankomicin¹, ali ovu hipotezu tek treba dokazati.
- Testiranje Xpert *vanA/vanB* testom treba koristiti kao dodatak drugim dostupnim metodama. Mutacije ili polimorfizmi u regionima vezivanja prajmera ili probe mogu uticati na detekciju novih ili nepoznatih VRE varijanti, što može dati lažno negativan rezultat.
- Upotreba bilo kog sistema za prikupljanje i transport osim Cepheid medicinskog sredstva za prikupljanje uzorka se ne preporučuje i nije procenjena.
- Xpert *vanA/vanB* test detektuje *vanA* gen, a ne mikroorganizam; stoga, *vanA* geni koje nose non-enterokoke, kao što su sojevi *Staphylococcus aureus* rezistentni na vankomicin, takođe mogu dati pozitivan rezultat.
- Zbog faktora razblaženja povezanog sa postupkom ponovnog testiranja, moguće je da *vanA* i *vanB* pozitivni uzorci budu veoma blizu granice ili na granici detekcije (LoD) Xpert *vanA/vanB* testa, što može dovesti do lažno negativnog rezultata nakon ponovnog testiranja.
- Na rezultate testa takođe mogu uticati prateća antibiotska terapija ili broj mikroorganizama u uzorku, koji može biti ispod granice detekcije testa.

17 Karakteristike performansi

17.1 Kliničke performanse

Karakteristike performansi Xpert vanA/vanB analize određene su u multicentričnoj prospektivnoj istraživačkoj studiji u četiri ustanove u Sjedinjenim Državama i u jednom centru u Evropi, poređenjem Xpert vanA/vanB analize na GeneXpert sistemu (Xpert vanA/vanB analiza) pomoću kulture. Da bi bili uključeni u ovu studiju, uzorci su morali da potiču od pojedinaca čije je kultivisanje bilo indikovano i/ili naloženo, u skladu sa praksama ustanova.

Korišćen je jedan uzorak brisa za testiranje pomoću Xpert vanA/vanB testa. Drugi bris je slat u centralnu laboratoriju za kultivisanje, osim za centar u Evropi. Nakon prijema u centralnu laboratoriju za kultivisanje, bris je korišćen za inokulaciju ploče sa žučnim eskulin azidnim agarom sa vankomicinom, a zatim je postavljan u bujon sa žučnim eskulinom koji je sadržao vankomicin. Nakon 24-časovne inkubacije na temperaturi od + 35°C, bujon je podkultivisan na žučnom eskulin azidnom agaru sa vankomicinom i pregledan je za 24 i 48 sati. Nakon bojenja po Gramu i PYR-testa, pretpostavljene VRE su identifikovane pomoću API20S traka (BioMérieux, Francuska). Određivanje vanA i/ili vanB obavljeno je pomoću E-testova (AB Biodisk, Švedska) za vankomicin i teikoplanin.

17.2 Sveukupni rezultati

Testirano je ukupno 878 rektalnih uzoraka briseva na VRE pomoću Xpert vanA/vanB testa i upoređeno sa metodom direktne kulture. Testirano je ukupno 878 rektalnih uzoraka briseva na VRE pomoću Xpert vanA/vanB testa i upoređeno sa metodom obogaćene kulture.

Testirano je ukupno 429 perianalnih uzoraka briseva na VRE pomoću Xpert vanA/vanB testa i upoređeno sa metodom direktne kulture. Testirano je ukupno 430 perianalnih uzoraka briseva na VRE pomoću Xpert vanA/vanB testa i upoređeno sa metodom obogaćene kulture.

Osetljivost, specifičnost, pozitivna prediktivna vrednost (PPV) i negativna prediktivna vrednost (NPV) za Xpert vanA/vanB test, date su u Tabela 2 i Tabela 3.

Tabela 2. Karakteristike performansi Xpert vanA/vanB testa po tipu uzorka i metodi direktne kulture

Xpert vanA/vanB naspram direktne kulture vanA sa 95% CI				
	Osetljivost	Specifičnost	PPV	NPV
Perianalni	98,1% (51/52) (89,7% - 100,0%)	93,4% (352/377) (90,4% - 95,7%)	67,1% (51/76) (55,4% - 77,5%)	99,7% (352/353) (98,4% - 100,0%)
Rektalni	96,5% (83/86) (90,1% - 99,3%)	91,5% (725/792) (89,4% - 93,4%)	55,3% (83/150) (47,0% - 63,4%)	99,6% (725/728) (98,8% - 99,9%)
Ukupno	97,1% (134/138) (92,7% - 99,2%)	91,2% (1077/1169) (90,4% - 93,6%)	59,3% (134/226) (52,6% - 65,8%)	99,6% (1077/1081) (99,1% - 99,9%)
Xpert vanA/vanB naspram direktne kulture vanB sa 95% CI				
	Osetljivost	Specifičnost	PPV	NPV
Perianalni	25% (1/4) (0,6% - 80,6%) ^a	94,1% (400/425) (91,4% - 96,2%)	3,8% (1/26) (0,1% - 19,6%)	99,3% (400/403) (97,8% - 99,8%)
Rektalni	100% (13/13) (79,4% - 100,0%)	83,9% (726/865) (81,3% - 86,3%)	8,6% (13/152) (4,6% - 14,2%)	100% (726/726) (99,6% - 100,0%)
Ukupno	82,4% (14/17) (56,6% - 96,2%)	87,3% (1126/1290) (85,3% - 89,1%)	7,9% (14/178) (4,4% - 12,8%)	99,7% (1126/1129) (99,2% - 99,9%)
Xpert vanA/vanB naspram direktne kulture vanA/vanB sa 95% CI				
	Osetljivost	Specifičnost	PPV	NPV

Xpert vanA/vanB naspram direktne kulture vanA sa 95% CI				
	Osetljivost	Specifičnost	PPV	NPV
Perianalni	92,9% (52/56) (82,7% - 98,0%)	88,7% (331/373) (85,1% - 91,8%)	55,3% (52/94) (44,7% - 65,6%)	98,8% (331/335) (97,0% - 99,7%)
Rektalni	99,0% (96/97) (94,4% - 100,0%)	79,3% (619/781) (76,2% - 82,1%)	37,2% (96/258) (31,3% - 43,4%)	99,8% (619/620) (99,1% - 100,0%)
Ukupno	96,7% (148/153) (92,5% - 98,9%)	82,3% (950/1154) (80,0% - 84,5%)	42,0% (148/352) (36,8% - 47,4%)	99,5% (950/955) (98,8% - 99,8%)

^a Primarni faktor koji je doprineo nižoj osetljivosti od 25% za detekciju *vanB* u perianalnim uzorcima, bio je nizak broj uzoraka koji su bili pozitivni na *vanB* pomoću kulture. Sveukupno, postojala je niska prevalencija *zavanB* u studijskoj populaciji.

Tabela 3. Karakteristike performansi Xpert vanA/vanB testa po tipu uzorka i metodi obogaćene kulture

Xpert vanA/vanB naspram obogaćene kulture vanA sa 95% CI				
	Osetljivost	Specifičnost	PPV	NPV
Perianalni	90,6% (58/64) (80,7% - 96,5%)	95,1% (348/366) (92,3% - 97,1%)	76,3% (58/76) (65,2% - 85,3%)	98,3% (348/354) (96,3% - 99,4%)
Rektalni	92,0% (103/112) (85,3% - 96,3%)	94,0% (720/766) (92,1% - 95,6%)	69,1% (103/149) (61,0% - 76,4%)	98,8% (720/729) (97,7% - 99,4%)
Ukupno	91,5% (161/176) (86,3% - 95,2%)	94,3% (1068/1132) (92,8% - 95,6%)	71,6% (161/225) (65,2% - 77,4%)	98,6% (1068/1083) (97,7% - 99,2%)
Xpert vanA/vanB naspram obogaćene kulture vanB sa 95% CI				
	Osetljivost	Specifičnost	PPV	NPV
Perianalni	25% (1/4) (0,6% - 80,6%) ^a	94,1% (401/426) (91,5% - 96,2%)	3,8% (1/26) (0,1% - 18,6%)	99,3% (401/404) (97,8% - 99,8%)
Rektalni	100% (13/13) (79,4% - 100,0%)	83,9% (726/865) (81,3% - 86,3%)	8,6% (13/152) (4,6% - 14,2%)	100% (726/726) (99,6% - 100,0%)
Ukupno	82,4% (14/17) (56,6% - 96,2%)	87,3% (1127/1291) (85,4% - 89,1%)	7,9% (14/178) (4,4% - 12,8%)	99,7% (1127/1130) (99,2% - 99,9%)
Xpert vanA/vanB naspram obogaćene kulture vanA/vanB sa 95% CI				
	Osetljivost	Specifičnost	PPV	NPV
Perianalni	86,8% (59/68) (76,4% - 93,8%)	90,3% (327/362) (86,8% - 93,2%)	62,8% (59/94) (52,2% - 72,5%)	97,3% (327/336) (95,0% - 98,8%)
Rektalni	94,3% (115/122) (88,5% - 97,7%)	81,2% (614/756) (78,2% - 83,9%)	44,7% (115/257) (38,6% - 51,1%)	98,9% (614/621) (97,7% - 99,5%)
Ukupno	91,6% (174/190) (86,6% - 95,1%)	84,2% (941/1118) (81,9% - 86,3%)	49,6% (174/351) (44,2% - 54,9%)	98,3% (941/957) (97,3% - 99,0%)

^a Primarni faktor koji je doprineo nižoj osetljivosti od 25% za detekciju *vanB* u perianalnim uzorcima, bio je nizak broj uzoraka koji su bili pozitivni na *vanB* pomoću kulture. Sveukupno, postojala je niska prevalencija *zavanB* u studijskoj populaciji.

18 Analitička specifičnost

Prikupljeno je, kvantifikovano i testirano četrdeset dva bakterijska i gljivična soja pomoću Xpert vanA/vanB testa. Sojevi su poticali iz Kolekcije kulture američkog tipa (ATCC), Kolekcije kulture Univerziteta u Geteborgu (CCUG), Nemačke kolekcije mikroorganizama i ćelijskih kultura (DSMZ) i Centara za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC).

Testirani mikroorganizmi su identifikovani kao Gram-pozitivni (22), Gram-negativni (18), uključujući sojeve *Pseudomonas* spp. i *Acinetobacter* spp. i gljivice (2), rezistentne na antibiotike. Mikroorganizmi su dalje klasifikovani kao aerobni (24), anaerobni (14) ili mikroaerofilni (2). Od testiranih vrsti, uključena su dva (2) soja koja su predstavljala *E. faecalis* i *E. faecium*, a koja su bila osetljiva na vankomicin.

Svaki soj je testiran u triplikatu pri opsezima koncentracija od $8,5 \times 10^8$ do $2,3 \times 10^{10}$ CFU/bris. Gljivice su testirane pri približno 10^7 ćelija po brisu. Pozitivne i negativne kontrole su obuhvaćene studijom. U okviru uslova studije, svi izolati su prijavljeni kao „vanA NEGATIVNO (vanA NEGATIVE)” i „vanB NEGATIVNO (vanB NEGATIVE)”. Analitička specifičnost je bila 100%.

19 Analitička osetljivost

Sprovedene su studije kako bi se odredili intervali poverenja od 95% za analitičku granicu detekcije (LoD) *Enterococcus faecium* (vanA) i *Enterococcus faecalis* (vanB) razblaženih u fekalnom matriksu humanog porekla, koju može detektovati Xpert vanA/vanB test. Fekalni matriks se sastojao od autoklaviranog humanog tečnog fecesa (vanA negativan i vanB negativan pomoću Xpert vanA/vanB testa) razblaženog u razmeri 1:10 u Tris puferu. LoD se definiše kao najniži broj kolonija koje formiraju jedinice (CFU) po brisu, koja se može razlikovati prema reproducibilnosti iz negativnih uzoraka sa poverenjem od 95%.

Analitička LoD procenjena je pomoću 4 do 10 replikata u svakom razblaženju. LoD je potvrđena obradom ukupno 20 replikata pri procenjenoj LoD koncentraciji.

U okviru uslova ove studije, granica detekcije za Xpert vanA/vanB test na simuliranim rektalnim uzorcima briseva je 37 CFU za vanA cilj i 112 CFU za vanB cilj.

20 Ometajuće supstance

Testirano je šesnaest egzogenih supstanci koje se povremeno koriste ili koje se mogu naći u stolici, na ometanje pomoću Xpert vanA/vanB testa. Testirane supstance su navedene u Tabeli 5. Nijedna od 16 testiranih supstanci nije pokazala detektabilno ometanje za vanA. Međutim, dve od šesnaest egzogenih supstanci, Hydrocortisone krema (1% hidrokortizon) i Pepto-Bismol® (1 – 5% bizmut-subsalicilat), mogu potencijalno ometati kad je prisutan vanB. Kad su testirani u studiji ometanja, Hydrocortisone krema i Pepto-Bismol®, dali su blago povišene Ct vrednosti u odnosu na kontrolu pufera.

Tabela 4. Supstance testirane na ometanje za Xpert vanA/vanB

Supstanca	Supstanca
Puna krv Univerzitetske bolnice Karolinska	Vazelin Unilever
Mucin (svinjski) Sigma	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Kaopectate® Chattem	Preparation H® prenosive vlažne maramice Wyeth Consumer Healthcare
Imodium® McNeil-PPC	Vankomicin Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazol Actavis
Fekalne masti Univerzitetske bolnice Karolinska	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC	E-Z HDTM barijum-sulfat visoke gustine za suspenziju E-Z-EM Kanada
Hydrocortisone krema Longs Drugs ^a	Pepto-Bismol® Procter & Gamble

^a Kad su testirani u studiji ometanja, rezultati su dali blago povišene Ct vrednosti u odnosu na kontrolu pufera.

21 Reference

1. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 to June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control.* 2004; 32:470-485.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Dokument M29 (pogledati poslednje izdanje).
4. Stinear TP, Olden DC, Johnson PD, Davies JK, Grayson ML. Enterococcal vanB Resistance Locus in Anaerobic Bacteria in Human Feces. *The Lancet.* 2001. 357:855-856.
5. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR, Grayson ML. Comparison of Three PCR Primer Sets for Identification of vanB Gene Carriage in Feces and Correlation with Carriage of Vancomycin-Resistant Enterococci: Interference by vanB-Containing Anaerobic Bacilli. *Antimicrob Agents and Chemother.* 2005. 49(1): 77-81.
6. Domingo M.-C, Huletsky A, Bernal A, Giroux A, Boudreau DK, Picard FJ, Bergeron MG. Characterization of a Tn5382-like Transposon Containing the vanB2 Gene Cluster in a Clostridium Strain Isolated from Human Faeces. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2005. 55(4):466-74.
7. UREDBA (EO) br. 1272/2008 EVROPSKOG PARLAMENTA I SAVETA od 16. decembra 2008. o klasifikacionom označavanju i pakovanju supstanci i smeša koja menja i ukida Listu izjava o predostrožnosti Direktive 67/548/EEC i 1999/EC (izmene i dopune Uredbi (EO) Br. 1907/2007)
8. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).

22 Lokacije sedišta kompanije Cepheid

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

23 Tehnička pomoć

Pre nego što nam se obratite

Prikupite sledeće informacije pre nego što se obratite službi za tehničku podršku kompanije Cepheid:

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

Korisnici treba da prijave ozbiljne incidente povezane sa testom kompaniji Cepheid i nadležnim vlastima države članice u kojoj se ozbiljni incident dogodio.

Sjedinjene Države



















Telefon: + 1 888 838 3222 I-mejl: techsupport@cepheid.com

Francuska

Telefon: + 33 563 825 319 I-mejl: support@cepheideurope.com

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

24 Tabela simbola

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

Detalji o uvozniku za Švajcarsku

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



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden
Product of Sweden



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



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

