

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

REF GXMRSA/SABC-CE-10

Инструкция по применению

CE **IVD**

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2019–2023 Cepheid.

See Section 23, Revision History, for a description of changes.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid, зарегистрированными в США и других странах.

Все другие товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

© 2019-2023 Cepheid.

См. Раздел 23 , где представлены изменения.

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

Только для диагностического применения *in vitro*

1 Патентованное название

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

2 Общепринятое или распространенное наименование

Xpert MRSA/SA Blood Culture или Xpert MRSA/SA BC

3 Назначение

Тест Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture, выполняемый на системе приборов GeneXpert[®], является качественным диагностическим тестом *in vitro*, предназначенным для быстрого одновременного обнаружения золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (SA) и метициллин-резистентного золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (MRSA) у пациентов с положительной гемокультурой. В данном тесте для обнаружения ДНК МРЗС/золотистого стафилококка используется автоматизированная технология полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Тест Xpert MRSA/SA Blood Culture предназначен для облегчения обнаружения и идентификации MRSA и SA во флаконах с положительной гемокультурой. Тест Xpert MRSA/SA Blood Culture показан к применению в сочетании с другими лабораторными тестами, например выделением культуры микроорганизмов, и имеющимися у клинициста клиническими данными как вспомогательное средство обнаружения MRSA и SA у пациентов с положительной гемокультурой. Для получения микроорганизмов с целью определения чувствительности к антибиотикам или эпидемиологического типирования необходим пересев положительного материала гемокультуры. Тест Xpert MRSA/SA Blood Culture компании Cepheid не предназначен для контроля над лечением инфекций, вызванных MRSA или SA.

4 Краткие сведения и разъяснения

Staphylococcus aureus (SA) является широко распространенным возбудителем инфекционных заболеваний человека и этиологическим фактором различных заболеваний, таких как бактериемия, эндокардит, остеомиелит, синдром токсического шока, пищевые отравления, карбункулы, фурункулы и др. В начале 1950-х годов возникновение и распространение плазмид, продуцирующих бета-лактамазу, снизило эффективность пенициллина при лечении инфекций, вызванных SA. С 1959 г. началось применение метициллина (полусинтетического пенициллина), и вскоре были обнаружены штаммы SA, устойчивые к метициллину (MRSA). В настоящее время известно, что резистентность связана с приобретением SA генного комплекса *mec*, содержащего ген *mecA*, и, потенциально, другие варианты гена *mecA*, такие как *mecA_{LGA251}* (который называется ген *mecC*). Сегодня в Соединенных Штатах MRSA является причиной примерно 25% инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, что приводит к значительной заболеваемости и смертности.

Сообщается о существенном уровне смертности, расцениваемой как связанной с бактериемией, вызванной MRSA, и метициллин-чувствительным SA (MSSA). В настоящее время стандартным методом обнаружения SA, в том числе MRSA во флаконах с гемокультурой, является культивирование в условиях *in vitro*. Внедрение быстрого и чувствительного метода тестирования на SA, включая MRSA, может принести пользу для системы здравоохранения.^{1,2,3,4,5,6}

5 Принципы проведения процедуры

В системах GeneXpert Прибор происходит автоматизированная и интегрированная подготовка образцов, очистка и амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевой последовательности в простых и сложных образцах с использованием ПЦР в реальном времени. Система состоит из анализатора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи, которые содержат реагенты для ПЦР, и в которых проводится ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание системы представлено в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

Набор теста Xpert MRSA/SA Blood Culture компании Cepheid содержит реагенты для обнаружения MRSA и SA, а также контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC), предназначенный для контроля правильности обработки целевых бактерий и выявления ингибитора (-ов) реакции ПЦР. SPC также позволяет удостовериться в наличии надлежащих для протекания реакции амплификации условий ПЦР (температуры и времени) и в действенности реагентов для ПЦР. Дополнительный внутренний контроль — контроль зондов (Probe Check Control, PCC) — предназначен для проверки правильности регидратации реагентов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Праймеры и зонды теста Xpert MRSA/SA Blood Culture обеспечивают обнаружение особых последовательностей, кодирующих стафилококковый белок A (*spa*), ген резистентности к метициллину (*mecA*) и стафилококковую хромосомную кассету *mec* (*SCCmec*), встроенную в хромосому SA на участке *attB*. Целевые последовательности используются как по отдельности, так и в комбинации, для идентификации и различения SA и MRSA.

Для МРЗС, присутствующего во флаконе с гемокультурой в отсутствие каких-либо иных бактериальных штаммов, при проведении теста применяются алгоритмы на основе правил, согласно которым значения порога цикла (Ct) для трех целевых последовательностей (*spa*, *mecA*, и *SCCmec*) сравниваются для определения их происхождения или отсутствия такового от одного и того же штамма МРЗС. Считается, что MRSA присутствует в следующих случаях: 1) для всех трех целевых последовательностей получены значения Ct в допустимом диапазоне, и конечные точки превышают минимально допустимые значения; 2) в отсутствие *SCCmec* условия алгоритма на основе правил удовлетворяются для значений Ct *mecA* и *spa*; или 3) в отсутствие *spa* условия алгоритма на основе правил удовлетворяются для значений Ct *mecA* и *SCCmec*.

6 Реагенты и приборы

6.1 Комплект поставки

Набор теста Xpert MRSA/SA Blood Culture содержит реагенты в количестве, достаточном для анализа 10 образцов, полученных у пациентов, или образцов контроля качества. В набор входят:

Картриджи теста Xpert MRSA/SA Blood Culture со встроенными реакционными пробирками	10
<ul style="list-style-type: none"> • Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные) • Реагент 1 • Реагент 2 (гидроксид натрия) 	по 1 каждого типа в одном картридже 3 мл в одном картридже 3 мл в одном картридже 10 мл x 2,0 мл
Элюирующий реагент Xpert MRSA/SA Blood Culture (гуанидина гидрохлорид и поверхностно-активные вещества)	12
Одноразовые пипетки для переноса фиксированного объема (50 пл) Компакт-диск	1 в каждом наборе

<ul style="list-style-type: none"> • Файл описания теста (ADF) • Инструкция по импорту файла ADF в программное обеспечение GeneXpert • Инструкция по применению (вкладыш-инструкция) 	
---	--

Прим. Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Прим. Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя.

6.2 Хранение и обращение

- Храните картриджи и реагенты теста Xpert MRSA/SA Blood Culture при температуре 2 – 28 °С.
- Не используйте реагенты, пипетки или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте пипетку или крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.

6.3 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер, ручной сканер штрих-кодов и руководство оператора
 - Для системы GeneXpert Dx: программное обеспечение GeneXpert Dx версии 5.3 и выше
 - Для систем GeneXpert Infinity-80 и Infinity-48s: программное обеспечение Xpertise версии 6.8 или выше
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Вихревая мешалка
- Одноразовая стерильная пипетка для переноса (для внесения образца в картридж)

6.4 Доступные материалы, не входящие в комплект поставки

KWIK-STIKs™ компании Microbiologics, каталожные номера 0158MRSA (SCCmec тип II) и 0360MSSA (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*) могут использоваться в качестве внешних положительных контролей, а изделие с каталожным номером 0371MSSE (метициллин-чувствительный *Staphylococcus epidermidis*) в качестве внешнего отрицательного контроля.

7 Предупреждения и меры предосторожности

- Для использования при проведении диагностических тестов *in vitro*.
- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний США» (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁸ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁸
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реагентов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды при обращении с отходами. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления. По вопросам надлежащего

удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реагентов обратитесь к сотруднику по защите окружающей среды и удалению отходов вашего учреждения.⁹

- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Тест Xpert MRSA/SA Blood Culture не дает результатов, пригодных для определения чувствительности к антибактериальным препаратам. С целью определения чувствительности к антибактериальным препаратам необходимо выполнять пересев всех положительных гемокультур.
- В смешанной культуре, содержащей MRSA/SA и другие микроорганизмы (например, грамотрицательные палочки или дрожжи), могут быть получены ложноотрицательные или непостоянные результаты в зависимости от концентраций MRSA/SA, в частности, если концентрация MRSA/SA близка к порогу обнаружения (LoD) теста.
- Не заменяйте элюирующий реагент теста Xpert MRSA/SA Blood Culture другими реагентами.
- Не используйте картридж, который падал или подвергался встряхиванию.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Не используйте помутневшие или изменившие цвет реагенты.
- Не используйте новые картриджи, из которых вытекли реагенты. Наличие жидкости на внешней поверхности использованного картриджа может указывать на наличие проблемы.
- Каждый одноразовый картридж Xpert MRSA/SA Blood Culture применяется для выполнения одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- В тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture можно использовать гемокультуры на следующих средах:
 - Среда BACTEC™ PEDS PLUS™/F
 - Аэробная среда BACTEC™ Plus Aerobic/F
 - Анаэробная среда BACTEC™ Plus Anaerobic/F
 - Анаэробная среда BACTEC™ Standard Anaerobic/F
 - Аэробная среда BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
 - Флаконы для анаэробного культивирования BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
 - Стандартная аэробная среда bioMérieux BacT/ALERT® SA
 - Стандартная анаэробная среда bioMérieux BacT/ALERT® SN
 - VersaTREK™ REDOX™ 1R (аэробная)
 - VersaTREK™ REDOX™ 2R (анаэробная)
- В тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture нельзя использовать гемокультуры, выращенные на питательных средах с активированным углем.
- Тест Xpert MRSA/SA Blood Culture можно использовать только для исследования гемокультур во флаконах с положительным микробным ростом, в которых при окрашивании по Граму обнаруживаются гроздевидные скопления грамположительных кокков или единичные грамположительные кокки.

8 Образцы: взятие, транспортировка и хранение

Прим. Результаты культурального исследования крови критически важны для лечения пациентов. Следуйте принятым в медицинском учреждении/лаборатории правилам и рекомендациям по уведомлению лечащего врача о результатах культурального исследования крови (в устной, письменной или электронной форме).

- При обнаружении микробного роста извлеките флаконы с гемокультурами из инкубатора. Согласно стандартному лабораторному протоколу, необходимо выполнить окрашивание по Граму материала положительной гемокультуры.
- Из флаконов с положительной гемокультурой, в которых обнаружены гроздевидные скопления грамположительных кокков или единичные грамположительные кокки, возьмите примерно 1 мл образца положительной гемокультуры и пометьте его идентификатором образца.
- Если тестирование образца будет выполнено в течение 24 часов, храните его в холодильнике при 2–8 °C или при комнатной температуре. Если тестирование образца будет выполнено более чем через 24 часа, храните его в холодильнике при 2–8 °C не более трех дней. Образцы, хранившиеся при комнатной температуре более 24 часов или при температуре 2–8 °C более трех дней, непригодны для исследования с использованием теста Xpert MRSA/SA Blood Culture.

9 Химические опасные факторы^{10, 11}

- Символ опасности СГС ООН: 
- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- Заявления об опасности СГС ООН
 - Вредно при проглатывании
 - Вызывает раздражение кожи
 - Вызывает серьезное раздражение глаз
- Предостерегающие заявления СГС ООН
 - Профилактика
 - После использования тщательно вымыть.
 - Не принимать пищу, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
 - Реагирование
 - ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды с мылом.
 - Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.
 - Требуется специальная обработка. См. дополнительную информацию о первой помощи.
 - При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью
 - ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: При плохом самочувствии немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - Прополоскать рот.
 - Хранение/удаление в отходы
 - Удаление в отходы содержимого и (или) тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

10 Процедура

10.1 Подготовка картриджа

Важное замечание

В случае применения прибора GeneXpert тест следует начать не позднее чем через 3 часа после внесения подготовленного образца в картридж. При использовании системы GeneXpert Infinity необходимо начать тест и установить картридж на конвейерную ленту в течение 30 минут после внесения образца в картридж. Оставшийся срок хранения отслеживается системой при помощи программного обеспечения Xpertise и тесты будут запущены до истечения допустимого трехчасового срока нахождения картриджа в системе.

Порядок внесения образца и элюирующего реагента в картридж:

1. Извлеките картридж и элюирующий реактив из упаковки.
2. Аккуратно перемешайте пробирку с образцом гемокультуры вручную. Не используйте вихревую мешалку.
3. Используя входящую в комплект поставки пипетку фиксированного объема (50 мкл) поэтапно, как описано ниже, перенесите содержимое пипетки фиксированного объема, содержащее образец положительной гемокультуры во флакон с элюирующим реагентом:
 - a. Крепко сожмите верхнюю грушу пипетки.
 - b. Не отпуская палец, поместите кончик пипетки в образец.
 - c. Удерживая кончик пипетки в образце, ослабьте давление на грушу пипетки, чтобы пипетка заполнилась.
 - d. Расположите кончик пипетки над горлышком флакона с элюирующим реагентом.
 - e. Крепко сожмите верхнюю грушу пипетки, чтобы опорожнить содержимое пипетки во флакон элюирующего реагента. Избыток жидкости может остаться в груше перепополнения.

Прим. Для минимизации риска контаминации используйте стерильную марлю при работе с зондом-тампоном.

4. Закройте флакон элюирующего реактива колпачком и перемешайте содержимое флакона на вихревой мешалке при высокой скорости в течение 10 секунд.
5. Откройте крышку картриджа. Пользуясь пипеткой для переноса (не входит в комплект поставки), перенесите все содержимое флакона элюирующего реактива в камеру для образца картриджа Xpert MRSA/SA Blood Culture. См. рисунок 1.
6. Закройте крышку картриджа и начните анализ.



Рисунок 1. Картридж теста MRSA/SA Blood Culture (вид сверху)

10.2 Запуск теста

Важное замечание При использовании системы *GeneXpert Dx* перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение *GeneXpert Dx* версии 4.7b или выше, и что правильный файл описания теста импортирован в программное обеспечение.

Важное замечание При использовании системы *GeneXpert Infinity* перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение *Xpertise* версии 6.4b или выше, и что правильный файл описания теста импортирован в программное обеспечение.

В данном разделе перечислены основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

Прим. Выполняемые вами действия могут быть другими, если администратор системы изменил установленную по умолчанию рабочую последовательность системы.

1. Включите прибор *GeneXpert*:
 - При использовании прибора *GeneXpert Dx* следует сначала включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение *GeneXpert* запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения *GeneXpert Dx*, который находится на рабочем столе *Windows*®.
 - или
 - При использовании прибора *GeneXpert Infinity* следует включить прибор. Программное обеспечение *Xpertise* запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения *Xpertise*, который находится на рабочем столе *Windows*®.
2. Войдите в программное обеспечение системы приборов *GeneXpert*, используя свои имя пользователя и пароль.
3. В окне системы *GeneXpert* щелкните **Создать анализ (Create Test)** (для *GeneXpert Dx*) или **Заказы (Orders)**, а затем **Заказать анализ (Order Test)** (для *Infinity*). Откроется окно **Создать анализ (Create Test)**. Появится окно **Scan Patient ID barcode (Сканировать штрихкод ID пациента)**.
4. Отсканируйте или введите «ID пациента» (Patient ID). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), то проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатами теста; он

указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах. Появится диалоговое окно **Сканировать штрихкод ID образца (Scan Sample ID Barcode)**.

5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. ID образца (Sample ID) связывается с результатами теста; он указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах. Появится диалоговое окно **Сканировать штрихкод картриджа (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Отсканируйте штрихкод на картридже. На основе информации, считанной со штрихкода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реагента» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Прим.

Если штрихкод картриджа не сканируется, повторите анализ с новым картриджем. Если вы отсканировали штрихкод картриджа в программном обеспечении и файл описания теста недоступен, появится экран, показывающий, что файл описания теста не загружен в систему. Если появится этот экран, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid.

7. Щелкните **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). В появившемся диалоговом окне введите пароль, если это необходимо.
8. При использовании системы *GeneXpert Infinity* поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, тест будет выполнен, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- a) Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- b) Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа выключается.
- c) Прежде чем открывать дверцу модуля, дождитесь разблокирования системой замка дверцы. Затем извлеките картридж.
- d) Удаляйте в отходы использованные картриджи в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

10.3 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Подробные инструкции по просмотру и печати результатов приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx System* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity System*.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении анализа выберите кнопку **Отчет (Report)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

11 Контроль качества

11.1 Встроенные контроли качества

В каждый тест входит контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC)** предназначен для подтверждения соблюдения заданных условий при выполнении обработки образца. SPC содержит споры *Bacillus globigii* в форме сухой гранулы, которая имеется в каждом картридже для контроля правильности обработки образца в тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture. SPC позволяет верифицировать лизис SA (если они присутствуют в образце) и подтвердить правильность обработки образца. Кроме того, этот контроль выявляет связанное с образцом ингибирование процесса ПЦР в реальном времени и выполняет функцию внутреннего положительного контроля. Сигнал для контроля SPC должен быть положительным при отрицательном результате анализа образца, и может быть как положительным, так и отрицательным при положительном результате анализа образца. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям

приемлемости. Если SPC не обнаруживается в отрицательном образце, то результат будет помечен как Недействительный (Invalid).

- **Контроль проверки зондов (Probe Check Control, PCC)** – Перед запуском ПЦП система GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для отслеживания регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль зондов считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.

11.2 Внешние контроли

Внешние контроли могут использоваться в порядке, установленном применимыми требованиями местных, региональных и федеральных уполномоченных организаций.

Эталонные образцы KWIK-STIK (Microbiologics, каталожные номера 0158 MRSA [SCCmec типа II] и 0360 MSSA в качестве положительных контролей и каталожный номер 0371 MSSE в качестве отрицательного контроля) могут использоваться для обучения и выполнения внешнего контроля качества в системе GeneXpert. Следуйте приведенным ниже инструкциям внешнего контроля компании Microbiologics:

1. Разорвав пакет по надрезу, извлеките эталонный образец KWIK-STIK.
2. Зажмите низ ампулы в колпачке, чтобы высвободить гидратирующую жидкость.
3. Удерживая изделие в вертикальном положении, постучите, чтобы облегчить перетекание жидкости по стержню на дно изделия, где находится гранула.
4. Для облегчения растворения гранулы с лиофилизированными клетками раздавите гранулу и перемешайте ее содержимое в жидкости сжимающими движениями. Нажимая на KWIK-STIK, удостоверьтесь в том, что гранула больше не пальпируется.
5. Разделите KWIK-STIK так, чтобы высвободить тампон, и переломите его в пробирке, содержащей элюирующий реактив (резьбовой колпачок).
6. Закройте крышку пробирки элюирующего реактива и перемешайте содержимое на вихревой мешалке при высокой скорости в течение 10 секунд.
7. Продолжите процедуру анализа, начиная с пункта 5 раздела 10.1, «Подготовка картриджа».
8. Если не получены ожидаемые результаты внешнего контроля качества, повторите тест с внешним контролем и (или) обратитесь за помощью в компанию Cepheid.

12 Интерпретация результатов

Результаты выдаются системой GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и алгоритмов расчета, используемых программным обеспечением системы GeneXpert. Результаты отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). См. табл. 1 и рис. 2, рис. 3, рис. 4 и рис. 5.

Для МРЗС, присутствующего во флаконе с гемокультурой в отсутствие каких-либо иных бактериальных штаммов, при проведении теста применяются алгоритмы на основе правил, согласно которым значения порога цикла (Ct) для трех целевых последовательностей (*spa*, *mecA*, и *SCCmec*) сравниваются для определения их происхождения или отсутствия такового от одного и того же штамма МРЗС.

Таблица 1. Результаты теста Xpert MRSA/SA Blood Culture и их интерпретация

Результат	Интерпретация
MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) (Рисунок 2)	<p>MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE) / SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) — такой результат отображается при выполнении любого из следующих условий:</p> <ul style="list-style-type: none"> • все целевые последовательности MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> и <i>SCCmec</i>) обнаружены, или • <i>SCCmec</i> отсутствует, причем условия алгоритма на основе правил удовлетворяются для значений Ct <i>mecA</i> и <i>spa</i>, или • <i>spa</i> отсутствует, причем условия алгоритма на основе правил удовлетворяются для значений Ct <i>mecA</i> и <i>SCCmec</i>. • SPC — NA (неприменимо); сигнал SPC в этом случае не учитывается при интерпретации результатов, так как амплификация MRSA может конкурировать с этим контролем. • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) (Рисунок 3)	<p>MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE) / SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) — такой результат отображается при выполнении любого из следующих условий:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>spa</i> присутствует и <i>mecA</i> отсутствует, или • <i>spa</i> отсутствует, причем условия алгоритма на основе правил не удовлетворяются для значений Ct <i>mecA</i> и <i>SCCmec</i>, или • <i>SCCmec</i> отсутствует, причем условия алгоритма на основе правил не удовлетворяются для значений Ct <i>mecA</i> и <i>spa</i>. • SPC — NA (неприменимо); сигнал SPC в этом случае не учитывается при интерпретации результатов, так как амплификация SA может конкурировать с этим контролем. • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (SA NEGATIVE) (Рисунок 4)	<ul style="list-style-type: none"> • MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE) / SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (SA NEGATIVE) — целевая последовательность SA (<i>spa</i>) отсутствует и выполняется любое из следующих условий: • <i>mecA</i> отсутствует, или • <i>SCCmec</i> отсутствует, или • Присутствуют как <i>mecA</i>, так и <i>SCCmec</i>, причем условия алгоритма на основе правил не удовлетворяются для значений Ct <i>mecA</i> и <i>SCCmec</i>. • Контроль обработки образца — ПРОЙДЕН (PASS); Ct для контроля обработки образца находится в допустимом диапазоне, и конечная точка находится выше минимального порогового значения. Или, если обнаруживается какое-либо из целевых анализируемых веществ, результат SPC игнорируется. • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.

Результат	Интерпретация
<p>НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) (Рисунок 5)</p>	<p>Присутствие или отсутствие целевых последовательностей MRSA/SA не может быть определено. Повторите тест согласно инструкциям, приведенным в расположенном ниже разделе. Результат SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) — невозможно установить наличие или отсутствие ДНК <i>золотистого стафилококка</i> . ● Контроль обработки образца — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); результат определения целевой последовательности контроля обработки образца отрицательный, Ct контроля обработки образца находится за пределами допустимого диапазона, и конечная точка находится ниже установленного минимума. ● Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>ОШИБКА (ERROR)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Присутствие или отсутствие MRSA/SA не может быть установлено, повторите тест с новым образцом. Ошибка может быть следствием неправильного заполнения реакционной пробирки, проблемы с целостностью зонда или превышения пределов максимального давления. ● MRSA — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) ● ЗОЛОТИСТЫЙ СТАФИЛОКОКК — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) ● «SPC — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА» (SPC — NO RESULT) ● Контроль зондов — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)*; одна или несколько проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены. ● * Если контроль зондов пройден, ошибка вызвана сбоем компонента системы, или выходом за границы диапазона максимального давления.
<p>НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Присутствие или отсутствие целевых последовательностей ДНК МРЗС/золотистого стафилококка не может быть определено. Повторите тест согласно инструкциям, приведенным в расположенном ниже разделе. Для получения результата теста было собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если оператор прервал текущий процесс теста. ● MRSA — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) ● ЗОЛОТИСТЫЙ СТАФИЛОКОКК — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) ● «SPC — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА» (SPC — NO RESULT) ● Контроль зондов – НЕПРИМЕНИМО (NA)

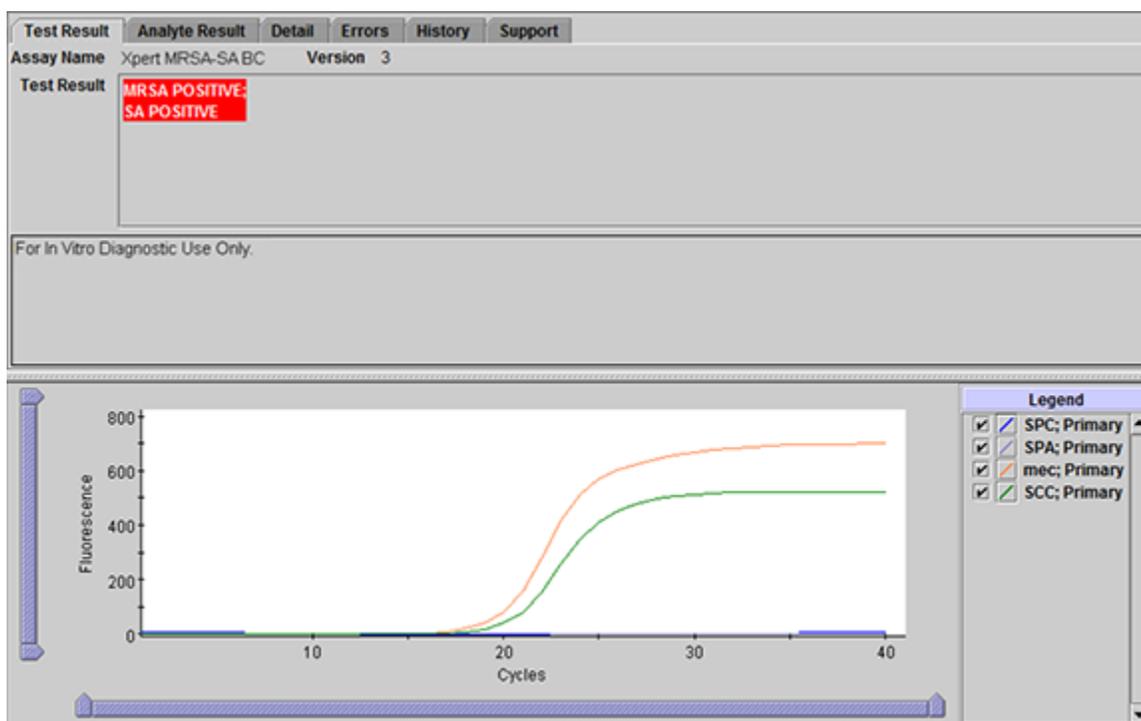


Рисунок 2. Пример результата «MRSA положительный» (MRSA Positive)

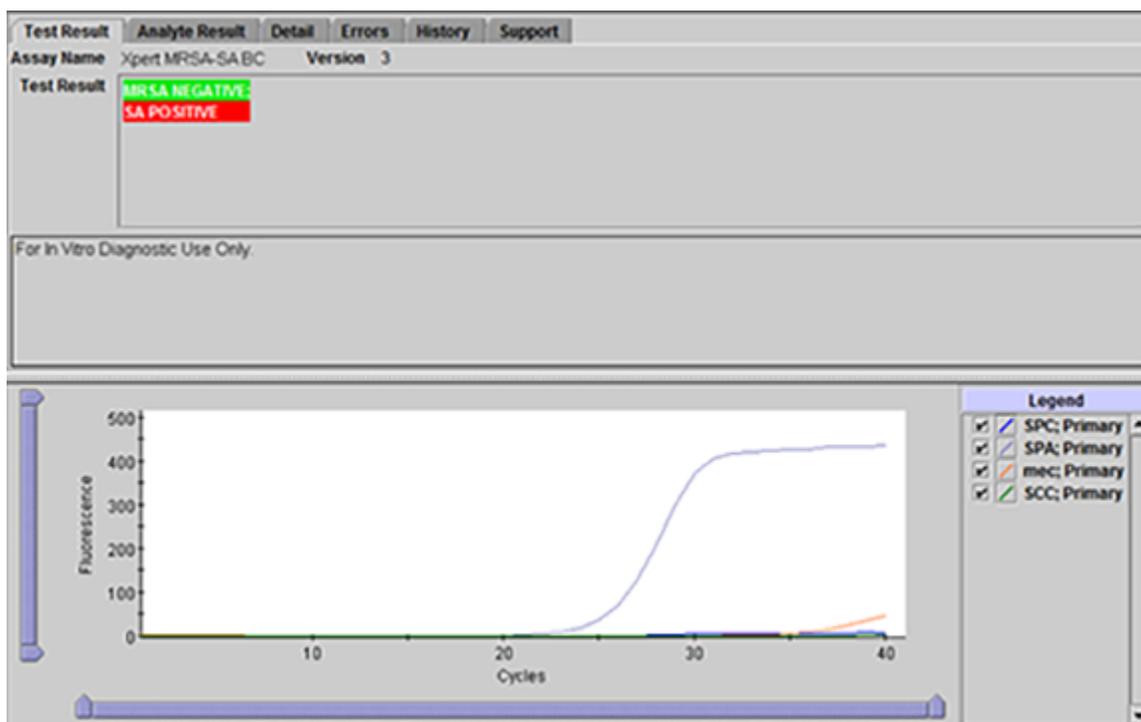


Рисунок 3. Пример результата «SA положительный» (SA Positive)

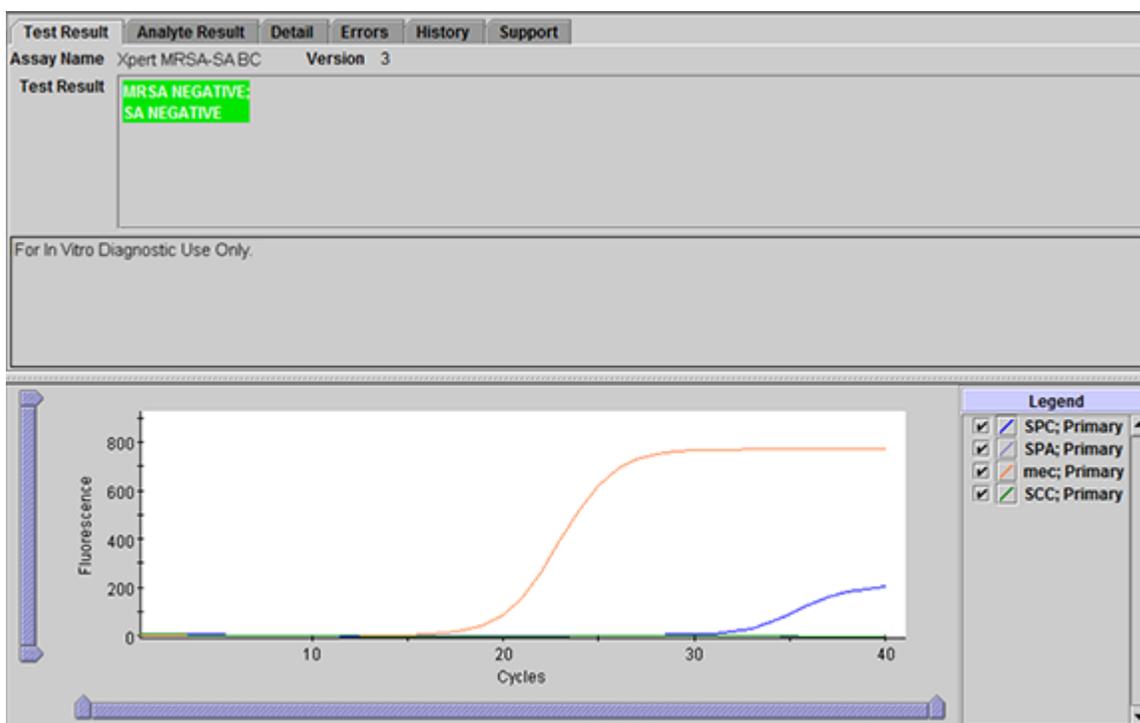


Рисунок 4. Пример отрицательного результата

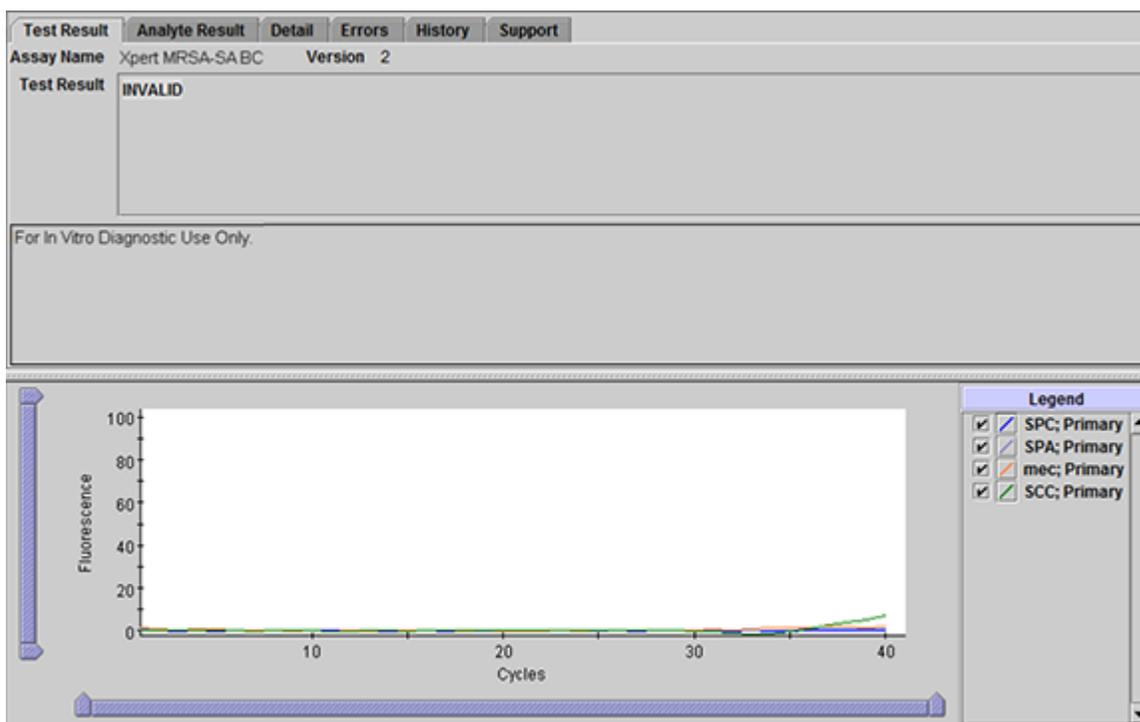


Рисунок 5. Пример результата «Недействительный» (Invalid)

12.1 Причины повторного выполнения теста

Образец подлежит повторному анализу, если при первом анализе получен любой из перечисленных ниже результатов.

- Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** означает, что контроль SPC не пройден. Образец не был обработан в тесте надлежащим образом, или произошло ингибирование ПЦР.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** указывает на то, что не пройдена проверка зондов, и тест был прерван, причинами чего может быть ненадлежащее заполнение реакционной пробирки, нарушение целостности зондов или превышение максимально допустимого давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.
- Если внешний контроль качества не выполнен ожидаемым образом, повторите анализ с внешним контролем и (или) обратитесь за помощью в компанию Cepheid.

12.2 Процедура повторного теста

Повторите тест с новым картриджем (не используйте картридж повторно) и новым флаконом элюирующего реагента.

В случае применения прибора GeneXpert Dx тест следует начать не позднее чем через 3 часа после внесения подготовленного образца в картридж. При использовании системы GeneXpert Infinity необходимо начать тест и установить картридж на конвейерную ленту в течение 30 минут после внесения образца в картридж. Оставшийся срок хранения отслеживается системой при помощи программного обеспечения Xpertise и тесты будут запущены до истечения допустимого трехчасового срока нахождения картриджей в системе.

1. Извлеките картридж и элюирующий реактив из упаковки.
2. Аккуратно перемешайте пробирку с образцом гемокультуры вручную. Не используйте вихревую мешалку.
3. Используя входящую в комплект поставки пипетку фиксированного объема (50 мкл) поэтапно, как описано ниже, перенесите содержимое пипетки фиксированного объема, содержащее образец положительной гемокультуры во флакон с элюирующим реактивом:
 - a. Крепко сожмите верхнюю грушу пипетки.
 - b. Не отпуская пальцев, поместите кончик пипетки в образец.
 - c. Удерживая кончик пипетки в образце, уменьшите давление на грушу пипетки, чтобы пипетка заполнилась.
 - d. Разместите кончик пипетки над горлышком флакона элюирующего реактива.
 - e. Крепко сожмите верхнюю грушу пипетки, чтобы опорожнить содержимое пипетки во флакон элюирующего реактива. Избыток жидкости может остаться в груше переполнения.
4. Закройте флакон элюирующего реактива колпачком и перемешайте содержимое флакона на вихревой мешалке при высокой скорости в течение 10 секунд.
5. Откройте крышку картриджа. Пользуясь пипеткой для переноса (не входит в комплект поставки), перенесите все содержимое флакона элюирующего реактива в камеру для образца картриджа Xpert MRSA/SA Blood Culture. См. рисунок 1.
6. Закройте крышку картриджа и начните анализ.

13 Ограничения

- Функциональные характеристики теста Xpert MRSA/SA Blood Culture прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данной инструкции по применению. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста. Результаты, полученные с использованием теста Xpert MRSA/SA Blood Culture, следует интерпретировать с учетом других имеющихся у врача лабораторных и клинических данных.
- Функциональные характеристики теста Xpert MRSA/SA Blood Culture не изучались при использовании других типов флаконов со средами для гемокультур, помимо следующих — BD BACTEC PEDS PLUS/F, аэробная среда BACTEC Plus Aerobic/F, анаэробная среда BD BACTEC Plus Anaerobic/F, стандартная анаэробная среда BD BACTEC Standard Anaerobic/F, стандартная/аэробная среда BD BACTEC Standard/ 10 Aerobic/F, анаэробная среда BD BACTEC LYTIC/10 Anaerobic/F, BacT/ALERT SA (стандартная аэробная), BacT/ALERT SN (стандартная анаэробная), VersaTREK REDOX 1 (аэробная) и VersaTREK REDOX 2 (анаэробная).
- В тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture нельзя использовать гемокультуры, выращенные на питательных средах с активированным углем (например, аэробную среду BacT/ALERT FAN).
- Тест Xpert MRSA/SA Blood Culture следует использовать в качестве дополнения к другим имеющимся методам.
- Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут отрицательно повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных вариантов МРЗС и привести к получению ложноотрицательных результатов.

- Ошибочные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора проб или инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, перемешиванием проб или недостаточным для обнаружения при помощи данного теста количеством микроорганизмов в образце. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно соблюдать указания, представленные в данной инструкции по применению.
- При анализе с использованием теста Xpert MRSA/SA Blood Culture иногда можно получить такие результаты, как НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID), ОШИБКА (ERROR) или НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT), что требует проведения повторного тестирования и может приводить к задержке получения окончательных результатов.
- Возможно обнаружение целевых последовательностей в концентрации ниже порога обнаружения (LoD), но результаты могут не быть воспроизводимыми.
- В тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture может быть получен ложно-отрицательный результат в отношении MRSA при исследовании SA с пограничной резистентностью к оксациллину (BORSA). Механизм резистентности к оксациллину в штаммах BORSA может быть связан с другими факторами (например, с повышенной продукцией β-лактамаз), а не с присутствием гена *mecA*. BORSA со значениями МИК оксациллина от 4 до 8 мкг/мл считаются имеющими пограничную резистентность, однако тест Xpert MRSA/SA Blood Culture может отнести их к категории MRSA-отрицательных.
- В тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture может быть получен ложно-отрицательный результат в отношении MRSA при исследовании модифицированного SA (MOD-SA). Механизм резистентности к оксациллину в штаммах MOD-SA связан с другими факторами (например, с изменением сродства пенициллин-связывающих белков к оксациллину), а не с присутствием гена *mecA*. MOD-SA со значениями МИК оксациллина от 4 до 8 мкг/мл считаются имеющими пограничную резистентность, однако тест Xpert MRSA/SA Blood Culture отнесет их к категории MRSA-отрицательных.
- В тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture будет получен ложно-отрицательный результат в отношении MRSA при исследовании штамма, содержащего гомолог *mecA* под названием *mecC*, например, штамм SA LGA251.
- В тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture может быть получен ложно-положительный результат в отношении MRSA при исследовании образца, в котором присутствуют как метициллин-резистентный коагулазонегативный стафилококк(MRCNS), так и метициллинчувствительный *Staphylococcus aureus*.
- В тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture может быть получен ложно-отрицательный результат в отношении MRSA при исследовании образца гемокультуры, содержащего несколько разных штаммов.
- Положительный результат теста не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако, он указывает на возможность присутствия MRSA или SA.

14 Ожидаемые значения

В клиническом исследовании теста Xpert MRSA/SA Blood Culture были изучены 792 образца гемокультур из восьми центров в США. Количество и процентная доля положительных образцов по результатам эталонного культурального метода рассчитывалось по возрастным группам; результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2. Наблюдаемая частота МРЗС и золотистого стафилококка при использовании культурального метода

Возрастная группа	Всего N	MRSA по результатам культурального исследования		SA по результатам культурального исследования	
		Количество положительных результатов	Наблюдаемая частота	Количество положительных результатов	Наблюдаемая частота
0–20 лет	22	2	9,1%	7	31,8%
21–30 лет	43	8	18,6%	10	23,3%
31–40 лет	65	8	16,9%	25	38,5%
41–50 лет	124	22	17,7%	45	36,3%
51 год – 60 лет	154	23	14,9%	48	31,8%
61 год – 70 лет	165	15	19,1%	46	27,9%

Возрастная группа	Всего N	MRSA по результатам культурального исследования		SA по результатам культурального исследования	
		Количество положительных результатов	Наблюдаемая частота	Количество положительных результатов	Наблюдаемая частота
>старше 70 лет	219	24	11,0 %	54	24,7%
Всего	792	105	13,3 %	236	29,8%

15 Функциональные характеристики

Обновленный файл с описанием теста с алгоритмами на основе правил и выпуск нового программного обеспечения GeneXpert для поддержки этого обновления прошли валидацию путем повторного анализа исходных данных по клиническим функциональным характеристикам и подмножества исходных данных по аналитическим функциональным характеристикам, включая порог обнаружения (LoD), инклюзивность, эксклюзивность, потенциально препятствующие проведению анализа субстанции, воспроизводимость и точность. Этот повторный анализ показал, что данные устройства по существу эквивалентны.

15.1 Клиническая эффективность

Функциональные характеристики Xpert MRSA/SA Blood Culture определяли в многоцентровом проспективном исследовании с участием восьми центров в США путем сравнения результатов, полученных с использованием теста Xpert MRSA/SA Blood Culture и культурального метода.

В исследование зачисляли пациентов, которым в рамках обычной медицинской помощи было показано выполнение культурального исследования образцов крови. Если при культивировании образца крови обнаруживался микробный рост, и при окрашивании по Граму выявлялись грамположительные кокки (единичные или в гроздевидных скоплениях), такой образец считался пригодным для включения в клиническое исследование. Аликвоты оставшегося материала культуры использовали для анализа при помощи теста Xpert MRSA/SA Blood Culture. Использовали стандартные методики культивирования и окрашивания по Граму; лечение пациентов продолжалось в клинике в соответствии со стандартной практикой.

Определение чувствительности выполнялось согласно документам M2-A11 и M100-S22 Института клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI).^{12,13} Результаты диск-диффузионного теста с цефокситином использовались в качестве сурrogата обнаружения резистентности к метициллину/оксациллину.

Функциональные характеристики теста Xpert MRSA/SA Blood Culture рассчитывали по процентным показателям совпадения результатов с результатами эталонного культурального исследования.

15.2 Общие результаты

Всего 792 образца были исследованы на MRSA и SA с использованием теста Xpert MRSA/SA Blood Culture и культурального метода.

При сравнении с культуральным методом сравнения, тест Xpert MRSA/SA Blood Culture позволил идентифицировать 98,1% образцов, положительных на MRSA, и 99,6% образцов, отрицательных на MRSA.

При сравнении с культуральным методом сравнения, тест Xpert MRSA/SA Blood Culture позволил идентифицировать 99,6% образцов, положительных на SA, и 99,5% образцов, отрицательных на SA.

Функциональные характеристики теста Xpert MRSA/SA Blood Culture представлены в табл. 3.

Таблица 3. Функциональные характеристики теста Xpert MRSA/SA BC по сравнению с эталонным культуральным методом

		Выделение культуры			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Отриц./Отсутствие роста	Всего
Xpert	MRSA +	103	2	1	106
	SA+/MRSA-	2	128	2	132
	SA-	0	1	553	554
	Всего	105	131	556	792
Функциональные характеристики теста Xpert	MRSA	PPA: 98,1% (103/104/105, 95 % ДИ: 93,3–99,8) NPA: 99,6% (684/687, 95 % ДИ: 98,7-99,9)			
	SA	PPA ^a : 99,6% (235/236, 95 % ДИ 97,7–99,9) NPA ^b : 99,5% (553/556, 95 % ДИ ^c : 98,4–99,9)			

^a Процент совпадений положительных результатов

^b Процент совпадений отрицательных результатов

^c доверительный интервал

При исследовании пригодных образцов в тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture 96,1 % (764/795) циклов были успешными после первой попытки. В остальных циклах (31) после первой попытки были получены не поддающиеся интерпретации результаты НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID), 22: ОШИБКА (ERROR) и 8: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)). Тридцать из 31 образца с результатами, не поддающимися интерпретации, были протестированы повторно; один образец повторно не тестировался. После повторного анализа были получены действительные результаты для 28 из 30 образцов с результатами, не поддающимися интерпретации. Общая доля успешно выполненных тестов составила 99,6 % (792/795)..

16 Аналитические функциональные характеристики

16.1 Порог обнаружения

Для определения точечных оценок и двусторонних 95 % доверительных интервалов порога обнаружения (LoD) теста Xpert MRSA/SA Blood Culture исследовали клетки SA и метициллин-резистентного SA (MRSA), разведенные в материале, имитирующем отрицательные образцы гемокультуры. Материал состоял из цельной крови (не содержащей SA) и клеток MSSE (метициллин-чувствительного *Staphylococcus epidermidis*) в количестве 10⁶ КОЕ/мл, которые добавлялись в среду для гемокультур. Порог обнаружения определяли как наименьшее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в образце, которое может быть воспроизводимо с 95 %-ным доверительным интервалом с возможностью отличия от отрицательных образцов или как наименьшая концентрация, при которой 19 из 20 повторностей были положительными.

В отношении MRSA выполняли исследование в 20 повторностях для каждой концентрации MRSA (КОЕ/тест) с использованием 10 отдельных изолятов, представляющих типы *SCCmec* I, II, III, IVa, IVd, V, VI, VII и VIII. По данным гель-электрофореза в пульсирующем поле (ГЭПП), обнаружены наиболее часто выделяемый в учреждениях здравоохранения штамм USA100 и наиболее часто выделяемый при внебольничных инфекциях штамм USA400.

В отношении SA выполняли оценку в 20 повторностях для каждой концентрации (КОЕ/тест) с использованием 3 отдельных изолятов SA. Были представлены типичные для США штаммы USA900 и USA1200.

Точечные оценки и доверительные интервалы определяли методом пробит-регрессии с использованием данных (число положительных результатов на число повторностей для каждого уровня) по всему диапазону значений КОЕ/тест. Доверительные интервалы определяли методом максимального подбора при параметрах пробит-модели с

помощью вариационно-ковариационной матрицы с большой выборкой. Точечные оценки порога обнаружения (LoD) с верхними и нижними границами 95 % доверительного интервала для каждого исследованного типа золотистого стафилококка и типа MRSA SCC тес показаны в табл. 4 и табл. 5.

Таблица 4. Порог обнаружения (LoD) и 95 % доверительные интервалы — SA

Штамм SA	Идентификатор по методу гель-электрофореза в пульсирующем поле	Подтвержденный LoD (КОЕ/тест) [положительных не менее 19/20]	Оценка LoD (пробит-регрессионный анализ) (КОЕ/тест)		
			Нижн. гр. 95 % ДИ	Оценочное значение LOD	Верхн. гр. 95 % ДИ
102-04 ^a	USA1200	100 (19/20)	60,4	74,5	101,6
29213 ^b	Неизв.	150 (19/20)	120,1	138,2	172,7
N129 ^a	USA900	300 (19/20)	224,2	255,2	314,8

^a Источник штамма: Американская коллекция типовых культур (ATCC), Манассас, штат Вирджиния, США

^b Источник штамма: Центр по контролю и профилактике заболеваний (CDC), Атланта, штат Джорджия, США

Таблица 5. Порог обнаружения (LoD) и 95 % доверительные интервалы — MRSA

Идентификатор штамма MRSA	Идентификатор по методу гель-электрофореза в пульсирующем поле	Подтвержденный LoD (КОЕ/тест) [положительных не менее 19/20]	Оценка LoD (пробит-регрессионный анализ) (КОЕ/тест)		
			Нижн. гр. 95 % ДИ	Оценочное значение LOD	Верхн. гр. 95 % ДИ
Тип I (64/4176) ^a	USA500	350 (19/20)	332,3	366,8	433,5
Тип II (N315) ^b	USA100 ^c	175 (19/20)	113,7	137,0	178,1
Тип III (11373) ^b	Неизв.	225 (19/20)	191,9	222,6	273,9
Тип IVa (MW2) ^b	USA400 ^c	350 (19/20)	313,1	356,1	427,0
Тип V (ST59) ^d	USA1000 ^c	250 (19/20)	218,2	243,1	282,3
Тип VI (HDE288) ^{ef}	USA800 ^c	250 (19/20)	222,2	246,0	385,0
Тип VII (JCSC6082) ^a	Неизв.	300 (19/20)	264,1	288,0	347,1
Тип VIII (WA MRSA-16) ^d	Неизв.	400 (19/20)	48,7	386,7	499,1
Тип II (BK2464) ^b	USA100 ^g	125 (19/20)	94,3	116,1	162,0
Тип IVd (BK2529) ^{bf}	USA500 ^g	200 (19/20)	120,8	148,8	202,5

^a Teruyo Ito, Department of Bacteriology, School of Medicine Juntendo University, Tokyo, Japan

^b Barry Kreiswirth, Director Public Health Research Institute (PHRI), Newark, NJ, USA

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

^d Geoffrey Coombs, Department of Microbiology and Infectious Diseases, Royal Perth Hospital, Perth, WA

^e Hermina deLencastre, Laboratory of Molecular Genetics, Instituto de Tecnologia Quimica e Biologica (ITQB), Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portugal

^f Гетерогенные оксациллин-резистентные изоляты

^g Barry Kreiswirth, личный контакт

Результаты исследования показывают, что тест Xpert MRSA/SA Blood Culture будет давать положительный результат на SA в 95 % случаев при тестировании положительной аликвоты крови (50 мкл), содержащей 300 КОЕ, и положительный результат на MRSA в 95 % случаев при тестировании положительной аликвоты крови (50 мкл), содержащей 400 КОЕ.

16.2 Исследование аналитической инклюзивности (реактивности)

При помощи теста Xpert MRSA/SA Blood Culture исследовали 250 штаммов SA (47 MSSA и 203 MRSA) из различных источников. Были выбраны штаммы первичных линий с особым вниманием к специфичным клональным комплексам, в которых обычно наблюдается MRSA. Были включены линии, содержащие MRSA и MSSA, а также содержащие исключительно MSSA. По данным гель-электрофореза в пульсирующем поле (ГЭПП) в исследование были также включены различные типы, обнаруживаемые в США, в том числе штамм USA100, наиболее часто выделяемый в учреждениях здравоохранения, и штаммы USA300 и USA400, наиболее часто выделяемые при внебольничных инфекциях.¹⁴ Также исследовали штаммы, представляющие варианты «пустой кассеты» и гетерогенные штаммы, охарактеризованные как SA с пограничной резистентностью к оксациллину (например, со значениями МИК оксациллина 4–8 мкг/мл) или BORSA.

Все штаммы исследовали в трех повторностях с использованием 10 мкл клеточных суспензий в стационарной фазе, разбавленных в 1 млн. раз. Количество колониеобразующих единиц в каждом тесте (КОЕ/тест) определялось путем подсчета по трем чашкам Петри. При помощи Xpert MRSA/SA Blood Culture были получены правильные результаты для всех образцов, кроме одного. В тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture один (1) штамм SA (LGA251) был идентифицирован неверно — как MSSA вместо MRSA. Штамм LGA251 содержит новый ген *mecA*, а именно отличающийся по структуре гомолог *mecA* — *mecC* (т.е. *mecA*_{LGA251}), который расположен в новом тес элементе стафилококковой хромосомной кассеты, который обозначается как SCC*mec* типа XI. Праймеры и зонды *mecA* в тесте MRSA/SA Blood Culture не позволяют обнаруживать ген *mecC* в указанном штамме вследствие мутаций в регионах связывания праймера или зонда. Ген *mecC* имеет существенные различия в гомологии по сравнению с геном *mecA* других невариантных штаммов MRSA.

16.3 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Были собраны, количественно определены и исследованы в тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture сто один (101) микроорганизм/штамм. Из 101 исследованного штамма — культуры 91 штамма получены из Американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection, ATCC); 1 из Коллекции культур университета Гётеборга (Culture Collection, University of Göteborg, CCUG), Швеция; 1 от Теруё Ито, Университет Юнтендо (Teruyo Ito, Juntendo University), Токио, Япония; 1 карбапенемаза-продуцирующий штамм *Klebsiella pneumoniae* из Национальной коллекции типовых культур (National Collection of Type Cultures, NCTC), Великобритания; и 7 — от Группы по изучению резистентности к антибактериальным препаратам золотистого стафилококка (Network on Antimicrobial Resistance in SA, NARSA). Они представляли собой штаммы, филогенетически родственные SA или встречающиеся в больничных условиях.

Исследованные микроорганизмы были идентифицированы как грамположительные (74), грамотрицательные (24) или дрожжи (3). В исследование были включены метициллин-чувствительные коагулазонегативные *стафилококки* (MScoNS) (27) и метициллин-резистентные коагулазонегативные *стафилококки* (MRCoNS) (12). Дополнительно выполнена классификация микроорганизмов на аэробные (94) и анаэробные (7).

Каждый изолят тестировали в трех повторностях при показателе мутности 1,7–3,2 единиц по МакФарланду. В условиях проведения исследования все образцы были определены как **MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE)**; **SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (SA NEGATIVE)**; с использованием теста Xpert MRSA/SA Blood Culture не был обнаружен ни один из этих изолятов. Аналитическая специфичность составила 100 %.

16.4 Изучение субстанций, препятствующих проведению анализа

Выполнено исследование для оценки веществ, которые могут присутствовать в крови и потенциально способны влиять на функциональные характеристики теста Xpert MRSA/SA Blood Culture. Изучались, помимо прочих, следующие вещества — антикоагулированная цельная кровь с ACD, ЭДТА, гепарином и цитратом натрия, человеческая плазма, три культуральные среды во флаконах (аэробная среда Becton Dickinson BACTEC Plus Aerobic/F, BioMérieux BacT/ALERT SA (стандартная аэробная) и TREK Diagnostics VersaTREK REDOX1 (аэробная)), билирубин, гамма-глобулин, гемоглобин, триглицериды и натрия полианетолсульфонат.

Использовавшиеся концентрации билирубина, гамма-глобулина, гемоглобина и триглицеридов примерно на одно логарифмическое значение превышали диапазон нормальных значений. Натрия полианетолсульфонат тестировали в концентрации, в 10 раз превышающей таковую в среде для культивирования крови. Для каждого вещества

тестировали отрицательные образцы ($n = 8$) с целью определения влияния на функциональные характеристики контроля обработки образца (Sample Processing Control, SPC). Для каждого вещества исследовали положительные образцы ($n=8$), которые получали путем внесения двух клинических изолятов MSSA (29213 и 102–04) и MRSA (SCCmec типов II и III) в концентрации на уровне аналитического порога обнаружения для каждого изолята. Все результаты сравнивали с положительными и отрицательными контрольными образцами (буфером). Для всех отрицательных образцов в тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture был получен правильный результат **MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (SA NEGATIVE)**.

Ни одно из веществ, потенциально способных препятствовать проведению анализа, не оказывало статистически значимого ингибирующего эффекта на функциональные характеристики SPC при исследовании отрицательных образцов (значение $p = >0,05$). Для всех положительных на MSSA образцов в тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture был получен правильный результат **MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)**. Для всех положительных на MRSA образцов в тесте Xpert MRSA/SA Blood Culture был получен правильный результат **MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)**. Не наблюдалось разницы в $Ct \geq 1$ цикла по сравнению с контролями (буфером) при исследовании каких-либо веществ, потенциально способных препятствовать проведению анализа, а также не отмечалось ложно-отрицательных результатов.

16.5 Исследование контаминации продуктами предыдущей реакции

Исследование проводилось с целью показать, что применение одноразовых автономных картриджей GeneXpert позволяет предотвратить контаминацию отрицательных образцов продуктами предыдущей реакции с использованием высокоположительных образцов в том же модуле GeneXpert. Суть данного исследования состояла в том, что немедленно после анализа высокоположительного образца (6×10^7 клеток MSSA или MRSA) в том же модуле системы GeneXpert Dx обрабатывали отрицательные образцы. Эту процедуру повторяли 40 раз на двух модулях GeneXpert. Всего выполняли 84 цикла тестирования на каждый штамм (40 положительных образцов на штамм на каждой системе и 44 отрицательных образца на штамм на каждой системе). Не обнаружено признаков контаминации продуктами предыдущей реакции. Для всех 40 положительных на MRSA образцов получен правильный результат **MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)**. Для всех 40 положительных на MSSA образцов получен правильный результат **MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)**. Для всех 88 отрицательных образцов был получен правильный результат **MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (SA NEGATIVE)**.

16.6 Валидация флаконов со средами для гемокультур

Функциональные характеристики теста Xpert MRSA/SA Blood Culture изучали при использовании семи дополнительных типов сред для гемокультур. Следующие флаконы со средами оценивали в отношении как MRSA, так и MSSA. См. таблицу 6.

Таблица 6. Флаконы со средами для гемокультур

BDBACTEC™ PEDS PLUS™/F
Анаэробная среда BDBACTEC™ Plus Anaerobic/F
Стандартная анаэробная среда BD BACTEC™ Standard Anaerobic/F
Стандартная/аэробная среда BD BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
Анаэробная среда BDBACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
Стандартная анаэробная среда BacT/ALERT® SN
VersaTREK™ REDOX™ 2 (анаэробная)

Положительные образцы гемокультуры создавали путем добавления во флаконы со средой каждого типа отрицательной цельной человеческой крови и отдельно по одному штамму MRSA и MSSA в итоговой концентрации бактерий 10 КОЕ/мл на флакон. Флаконы затем инкубировали до появления положительного микробного роста. После этого аликвоты каждого образца тестировали при концентрации 1500 КОЕ/тест в шести повторностях для каждого типа флаконов со средами. Во всех повторностях для положительных образцов были получены ожидаемые положительные результаты в отношении присутствующих целевых анализируемых веществ.

Отрицательные образцы гемокультуры создавали путем добавления во флаконы со средой каждого типа отрицательной цельной человеческой крови и инкубации в течение 24 часов. После этого образцы исследовали при помощи теста Xpert MRSA/SA Blood Culture. Во всех повторностях для отрицательных образцов были получены ожидаемые отрицательные результаты.

17 Воспроизводимость

Воспроизводимость теста Xpert MRSA/SA Blood Culture изучали в трех центрах с использованием образцов, полученных путем внесения культуры в имитирующий материал. Концентрация микроорганизмов в образцах соответствовала высокоотрицательному (ниже порога обнаружения [LoD]), слабopоложительному ($\sim 1 \times \text{LoD}$) и умеренноположительному ($\sim 2-3 \times \text{LoD}$) результату на MRSA и MSSA. Использовали два разных штамма MRSA. Также в панель образцов были включены отрицательные образцы, полученные путем внесения *Staphylococcus epidermidis* в имитирующий материал. Панель из 11 образцов исследовали в течение пяти разных дней два различных оператора по три раза в день в трех центрах (11 образцов \times 2 оператора \times 5 дней \times 3 повторности в день \times 3 центра). В исследовании использовали одну партию реагентов Xpert MRSA/SA BC.

Тест Xpert MRSA/SA Blood Culture выполняли согласно процедуре для этого теста. Данные о проценте совпадения для каждого компонента панели представлены в табл. 7.

Таблица 7. Сводные данные по воспроизводимости — % совпадений результатов между исследовательскими центрами/приборами

Образец	Центр 1/ GX Dx	Центр 2/ Inf-80	Центр 3/Inf-48	% Общий % совпадений
MRSA-1 высокоотрицат. (ниже порога обнаружения [LOD])	56,7 % (17/30)	60,0 % (18/30)	66,7 % (20/30)	61,1 % (55/90)
MRSA-1 слабopоложит. (~1 X LOD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
MRSA-1 умерен. положит. (~2–3 X LOD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (29/29)	100,0 % (89/89) ^a
MRSA-2 высокоотрицат. (ниже LOD)	43,3 % (13/30)	53,3 % (16/30)	70,0 % (21/30)	55,6 % (50/90)
MRSA-2 слабopоложит. (~1 X LOD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
MRSA-2 умерен. положит. (~2–3 X LOD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
MSSA высокоотрицат. (ниже LOD)	60,0 % (18/30)	48,3 % (14/29)	70,0 % (21/30)	59,6 % (53/89) ^b
MSSA слабopоложит. (~1 X LOD)	96,7 % (29/30)	100,0 % (30/30)	96,7 % (29/30)	97,8 % (88/90)
MSSA умерен. положит. (~2–3 X LOD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Отрицательный-1	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Отрицательный-2	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)

^a Результат для одного образца не поддавался интерпретации при первом и повторном анализе.

^b Один образец по ошибке не был исследован.

Воспроизводимость теста Xpert MRSA/SA Blood Culture также оценивали по флуоресцентному сигналу, выраженному в значениях порога цикла (Ct), для каждой обнаруживаемой целевой последовательности. Средние значения, стандартное отклонение (CO) и коэффициент вариации (KB) между центрами, партиями, днями и циклами для каждого компонента панели представлены в табл. 8.

Таблица 8. Сводные данные по воспроизводимости

Целевая последовательность	Образец	Конц.	Совпадение/N	Процент совп.	Среднее Ст	Между приборами		Между днями		Между циклами ^a		В пределах цикла		Всего	
						СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
spa	MRSA-1	высокоотрицат.	55/90	61,1	35,6	0,18	0,5	0,21	0,6	0,00	0,0	0,95	2,7	0,99	2,8
	MRSA-1	слабоположит.	90/90	100,0	32,8	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,62	1,9	0,67	2,1
	MRSA-1	умерен. положит.	89/89	100,0	31,2	0,11	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,58	1,9	0,59	1,9
	MRSA-2	высокоотрицат.	50/90	55,6	35,3	0,15	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,99	2,8	1,00	2,8
	MRSA-2	слабоположит.	90/90	100,0	32,3	0,11	0,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,63	1,9	0,65	2,0
	MRSA-2	умерен. положит.	90/90	100,0	30,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,8	0,55	1,8
	MSSA	высокоотрицат.	53/89	59,6	36,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,26	3,5	1,26	3,5
	MSSA	слабоположит.	88/90	97,8	33,5	0,07	0,2	0,18	0,5	0,00	0,0	0,89	2,7	0,91	2,7
	MSSA	умерен. положит.	90/90	100,0	31,7	0,08	0,2	0,20	0,6	0,17	0,6	0,48	1,5	0,56	1,8
	ОТРИЦ-1	Отриц.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
ОТРИЦ-2	Отриц.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
mec	MRSA-1	высокоотрицат.	55/90	61,1	35,8	0,00	0,0	0,36	1,0	0,00	0,0	0,83	2,3	0,91	2,5
	MRSA-1	слабоположит.	90/90	100,0	33,4	0,12	0,4	0,19	0,6	0,00	0,0	0,55	1,6	0,59	1,8
	MRSA-1	умерен. положит.	89/89	100,0	31,9	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,46	1,4	0,47	1,5
	MRSA-2	высокоотрицат.	50/90	55,6	35,8	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	1,03	2,9	1,08	3,0
	MRSA-2	слабоположит.	90/90	100,0	32,8	0,11	0,3	0,00	0,0	0,16	0,5	0,51	1,6	0,54	1,7
	MRSA-2	умерен. положит.	90/90	100,0	31,5	0,00	0,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,49	1,5	0,51	1,6
	MSSA	высокоотрицат.	53/89	59,6	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	MSSA	слабоположит.	88/90	97,8	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	MSSA	умерен. положит.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ-1	Отриц.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
ОТРИЦ-2	Отриц.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	
SCC	MRSA-1	высокоотрицат.	55/90	61,1	37,2	0,20	0,5	0,37	1,0	0,35	1,0	0,82	2,2	0,98	2,6
	MRSA-1	слабоположит.	90/90	100,0	34,5	0,19	0,5	0,23	0,7	0,00	0,0	0,59	1,7	0,66	1,9
	MRSA-1	умерен. положит.	89/89	100,0	33,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,45	1,4	0,48	1,5
	MRSA-2	высокоотрицат.	50/90	55,6	36,8	0,23	0,6	0,24	0,6	0,10	0,3	1,00	2,7	1,06	2,9
	MRSA-2	слабоположит.	90/90	100,0	33,7	0,11	0,3	0,00	0,0	0,26	0,8	0,57	1,7	0,64	1,9
	MRSA-2	умерен. положит.	90/90	100,0	32,4	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,45	1,4	0,46	1,4
	MSSA	высокоотрицат.	53/89	59,6	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	MSSA	слабоположит.	88/90	97,8	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	MSSA	умерен. положит.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ-1	Отриц.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
ОТРИЦ-2	Отриц.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	
SPC	MRSA-1	высокоотрицат.	55/90	61,1	32,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,20	0,6	0,65	2,0	0,68	2,1
	MRSA-1	слабоположит.	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,16	0,5	0,10	0,3	0,61	1,8	0,63	1,9
	MRSA-1	умерен. положит.	89/89	100,0	33,0	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,83	2,5	0,87	2,6
	MRSA-2	высокоотрицат.	50/90	55,6	33,1	0,23	0,7	0,00	0,0	0,10	0,3	0,85	2,6	0,89	2,7
	MRSA-2	слабоположит.	90/90	100,0	32,9	0,15	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,4	0,79	2,4
	MRSA-2	умерен. положит.	90/90	100,0	32,8	0,00	0,0	0,23	0,7	0,00	0,0	0,66	2,0	0,70	2,1
	MSSA	высокоотрицат.	53/89	59,6	32,8	0,18	0,5	0,15	0,5	0,00	0,0	0,74	2,2	0,77	2,4
	MSSA	слабоположит.	88/90	97,8	32,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,72	2,2	0,72	2,2
	MSSA	умерен. положит.	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,31	0,9	0,00	0,0	0,69	2,1	0,76	2,3
	ОТРИЦ-1	Отриц.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
ОТРИЦ-2	Отриц.	90/90	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	

^a Цикл определяется как три образца на каждый элемент панели, исследованные одним оператором в одном центре в один день.

Прим. Оценка вариабельности, связанная с некоторыми факторами, могла быть отрицательной в цифровом выражении, если была очень небольшой. В таких случаях значение вариабельности (измеряемое по СО и КВ) устанавливалось на 0.

18 Оценка прецизионности систем приборов

Внутреннее исследование компании по оценке прецизионности проводилось для сравнения функциональных характеристик систем приборов GeneXpert Dx, Infinity-48 и Infinity- 80 с использованием образцов, полученных путем внесения культуры в имитирующий материал. Концентрация микроорганизмов в образцах соответствовала высокоотрицательному (ниже порога обнаружения [LoD]), слабopоложительному (~1 X LoD) и умеренноположительному (~2–3 X LoD) результату на MRSA и MSSA. Использовали два разных штамма MRSA. Также в панель образцов были включены отрицательные образцы, полученные путем внесения *Staphylococcus epidermidis* в имитирующий материал. Панель из 11 образцов исследовали в течение 12 разных дней два различных оператора по четыре раза в день на каждый прибор (11 образцов x 2 оператора x 12 дней x 4 повторности в день x 3 прибора). В исследовании использовали одну партию реагентов Xpert MRSA/SA BC. Тест Xpert MRSA/SA Blood Culture выполняли согласно процедуре для этого теста. Данные о проценте совпадения для каждого компонента панели представлены в табл. 9.

Таблица 9. Сводные данные по прецизионности — совпадения результатов между приборами

Образец	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% Общий % совпадений
MRSA-1 высокоотрицат. (ниже порога обнаружения [LOD])	50.0% (48/96)	51.6% (49/95)	35.4% (34/96)	45,6 % (131/287) ^a
MRSA-1 слабopоложит. (~1 X LOD)	96,9 % (93/96)	99,0 % (95/96)	99,0 % (95/96)	98,3 % (283/288)
MRSA-1 умерен. положит. (~2–3 X LOD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	99,0 % (95/96)	99,7 % (287/288)
MRSA-2 высокоотрицат. (ниже LOD)	80,2 % (77/96)	78,1 % (75/96)	80,2 % (77/96)	79,5 % (229/288)
MRSA-2 слабopоложит. (~1 X LOD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)
MRSA-2 умерен. положит. (~2–3 X LOD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	99,0 % (95/96)	99,7 % (287/288)
MSSA высокоотрицат. (ниже LOD)	76,0% (73/96)	71,9% (69/96)	81,3% (78/96)	76,4% (220/288)

Образец	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% Общий % совпадений
MSSA слабоположит. (~1 X LOD)	96,9 % (93/96)	99,0 % (95/96)	100,0 % (96/96)	98,6 % (284/288)
MSSA умерен. положит. (~2-3 X LOD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)
Отрицательный-1	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)
Отрицательный-2	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)

^a Результат для одного образца не поддавался интерпретации при первом и повторном анализе.

Результаты исследования прецизионности также оценивали по флуоресцентному сигналу, выраженному в Ct, для каждой обнаруживаемой целевой последовательности. Средние значения, стандартные отклонения (CO) и коэффициенты вариации (КВ) между приборами, между днями и между циклами для каждого элемента панели представлены в табл.10.

Таблица 10. Сводные данные по прецизионности

Целевая последовательность	Образец	Конц.	Совпадение/N	Процент совп.	Среднее Ct	Между приборами		Между днями		Между циклами ^a		В пределах цикла		Всего		
						CO	КВ (%)	CO	КВ (%)	CO	КВ (%)	CO	КВ (%)	CO	КВ (%)	
spa	MRSA-1	высокоотрицат.	131/287	45,6	34,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,09	3,2	1,09	3,2	
	MRSA-1	слабоположит.	283/288	98,3	32,9	0,02	0,1	0,16	0,5	0,00	0,0	0,78	2,4	0,80	2,4	
	MRSA-1	умерен. положит.	287/288	99,7	32,0	0,06	0,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,62	1,9	0,63	2,0	
	MRSA-2	высокоотрицат.	229/288	79,5	36,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	1,19	3,3	1,35	3,7	
	MRSA-2	слабоположит.	288/288	100,0	32,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,57	1,8	0,62	1,9	
	MRSA-2	умерен. положит.	287/288	99,7	31,1	0,12	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,6	0,51	1,7	
	MSSA	высокоотрицат.	220/288	76,4	36,4	0,21	0,6	0,00	0,0	0,00	0,0	1,36	3,7	1,59	4,4	
	MSSA	слабоположит.	284/288	98,6	33,8	0,09	0,3	0,18	0,5	0,00	0,0	0,87	2,6	0,90	2,7	
	MSSA	умерен. положит.	288/288	100,0	32,2	0,08	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,70	2,2	0,74	2,3	
	ОТРИЦ-1	Отриц.	288/288	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
ОТРИЦ-2	Отриц.	288/288	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	
mec	MRSA-1	высокоотрицат.	131/287	45,6	34,5	0,00	0,0	0,11	0,3	0,00	0,0	0,86	2,5	0,87	2,5	
	MRSA-1	слабоположит.	283/288	98,3	33,4	0,07	0,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,61	1,8	0,63	1,9	
	MRSA-1	умерен. положит.	287/288	99,7	32,5	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,7	0,56	1,7	
	MRSA-2	высокоотрицат.	229/288	79,5	35,9	0,00	0,0	0,28	0,8	0,00	0,0	1,02	2,8	1,06	2,9	
	MRSA-2	слабоположит.	288/288	100,0	32,8	0,06	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,5	0,53	1,6	
	MRSA-2	умерен. положит.	287/288	99,7	31,5	0,14	0,5	0,05	0,2	0,00	0,0	0,45	1,4	0,47	1,5	
	MSSA	высокоотрицат.	220/288	76,4	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	MSSA	слабоположит.	284/288	98,6	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	MSSA	умерен. положит.	288/288	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ-1	Отриц.	288/288	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
ОТРИЦ-2	Отриц.	288/288	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	

SCC	MRSA-1	высокоотрицат.	131/287	45,6	36,7	0,18	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,51	4,1	1,52	4,1	
	MRSA-1	слабоположит.	283/288	98,3	34,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	1,11	3,2	1,13	3,2	
	MRSA-1	умерен. положит.	287/288	99,7	33,7	0,12	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,3	0,78	2,3	
	MRSA-2	высокоотрицат.	229/288	79,5	37,3	0,00	0,0	0,32	0,8	0,00	0,0	1,03	2,8	1,17	3,1	
	MRSA-2	слабоположит.	288/288	100,0	34,2	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,44	1,3	0,50	1,5	
	MRSA-2	умерен. положит.	287/288	99,7	33,0	0,12	0,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,49	1,5	0,50	1,5	
	MSSA	высокоотрицат.	220/288	76,4	Н/П	Н/П	Н/П									
	MSSA	слабоположит.	284/288	98,6	Н/П	Н/П	Н/П									
	MSSA	умерен. положит.	288/288	100,0	Н/П	Н/П	Н/П									
	ОТРИЦ-1	Отриц.	288/288	100,0	Н/П	Н/П	Н/П									
ОТРИЦ-2	Отриц.	288/288	100,0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	
SPC	MRSA-1	высокоотрицат.	131/287	45,6	33,4	0,00	0,0	0,17	0,5	0,00	0,0	0,84	2,5	0,86	2,6	
	MRSA-1	слабоположит.	283/288	98,3	33,4	0,10	0,3	0,21	0,6	0,00	0,0	0,77	2,3	0,80	2,4	
	MRSA-1	умерен. положит.	287/288	99,7	33,4	0,08	0,2	0,15	0,5	0,00	0,0	0,72	2,2	0,74	2,2	
	MRSA-2	высокоотрицат.	229/288	79,5	33,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,82	2,4	0,82	2,4	
	MRSA-2	слабоположит.	288/288	100,0	33,4	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,73	2,2	0,77	2,3	
	MRSA-2	умерен. положит.	287/288	99,7	33,3	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,74	2,2	0,75	2,2	
	MSSA	высокоотрицат.	220/288	76,4	33,4	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	0,83	2,5	0,85	2,6	
	MSSA	слабоположит.	284/288	98,6	33,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,86	2,6	0,87	2,6	
	MSSA	умерен. положит.	288/288	100,0	33,1	0,11	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	2,2	0,77	2,3	
	ОТРИЦ-1	Отриц.	288/288	100,0	33,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,00	0,0	0,85	2,6	0,87	2,6	
ОТРИЦ-2	Отриц.	288/288	100,0	33,5	0,00	0,0	0,02	0,1	0,00	0,0	0,84	2,5	0,84	2,5		

Совп. — совпадение, конц. — концентрация, КВ — коэффициент вариации, Н/П — неприменимо к отрицательным образцам, СО — стандартное отклонение.

Примечание: Оценка вариабельности, связанная с некоторыми факторами, могла быть отрицательной в цифровом выражении, если была очень небольшой. В таких случаях значение вариабельности (измеряемое по СО и КВ) устанавливалось на 0.

^a Цикл определяется как четыре образца на каждый элемент панели, исследованные одним оператором в одном центре в один день.

Прим. Оценка вариабельности, связанная с некоторыми факторами, могла быть отрицательной в цифровом выражении, если была очень небольшой. В таких случаях значение вариабельности (измеряемое по СО и КВ) устанавливалось на 0.

19 Литература

1. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollack DA, Fridkin SK. 2008. NHSN ежегодное обновление: устойчивые к антибиотикам патогены, связанные с внутрибольничными инфекциями; ежегодное резюме данных, сообщаемых в Национальную сеть безопасности здравоохранения в центрах по контролю и профилактике заболеваний, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008 Nov; 29(11):996-1011. doi: 10.1086/591861. Опечатка в: *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009 Jan; 30(1):107
2. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Контроль эндемичного метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus*. *JAMA.* 282(19):1745-51
3. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Молекулярная эпидемиология метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus*. Новые инфекционные болезни. 7(2):323-6.
4. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. Распространение метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* в сообществе. *Cleveland Clinic J Med.* 72 (3): 235-241.
5. Das I, O'Connell N, Lambert P. 2007. Эпидемиология, клинические и лабораторные характеристики бактериемии *Staphylococcus aureus* в университетской больнице в Великобритании. *J Hosp Infect.* 65(2): 117-123.
6. Anderson DJ *et al.* 2009 Клинические и финансовые последствия в результате послеоперационных инфекций, вызванных метициллин-резистентным *Staphylococcus aureus* : Многоцентровое исследование по оценке сопоставимых исходов PLoS ONE 4(12): e8305. doi:10.1371/journal.pone.0008305.
7. Центры по контролю и профилактике заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention). Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях. Министерство здравоохранения и социальных служб США.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Защита сотрудников лабораторий от инфекций как профессиональных заболеваний; утвержденные руководящие принципы. Документ M29 (см. последнюю редакцию). Институт клинических и лабораторных стандартов, Вэйн, штат Пенсильвания.
9. Chartier Y, et al. Безопасное удаление медицинских отходов. Бюллетень Всемирной организации здравоохранения (см. последнюю редакцию).
10. Регламент (ЕС) № 1272/2008 Европейского парламента и Совета от 16 декабря 2008 г. по классификации, маркировке и упаковке химических веществ и смесей, изменяющий и отменяющий Директивы 67/548/ЕЕС и 1999/45/ЕС, и изменяющий Регламент (ЕС) № 1907/2006.
11. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 марта, 2012 г.) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
12. CLSI M2-A11. 2012 Требования к эксплуатационным характеристикам для дисковых тестов на антимикробную чувствительность, утвержденные стандарты. Одиннадцатое издание. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 США.
13. CLSI M100-S22. 2012 Требования к эксплуатационным характеристикам для дисковых тестов на антимикробную чувствительность; двадцать второе информационное дополнение, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 США.
14. Cooper, J E, Feil, E J. 2006. Филогения *Staphylococcus aureus* - какие гены определяют наилучшие внутривидовые маркеры? *Microbiology* 152:1297–1305.

20 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

21 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

США

Телефон: + 1 888 838 3222 Электронный адрес: techsupport@cepheid.com

Франция

Телефон: + 33 563 825 319 Электронный адрес: support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/support/contact-us

22 Таблица условных обозначений

Символ	Значение
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Маркировка CE – Европейское соответствие
	См. инструкцию по применению
	Предупреждение
	Производитель
	Страна производства
	Содержит достаточное количество для <i>n</i> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологические риски
	Предупреждение
	Уполномоченный представитель в Швейцарии
	Импортер



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



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



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



23 История редакций документа

Раздел	Описание изменения
Таблица условных обозначений	В таблицу условных обозначений добавлены символы «CH REP» (Представитель в Швейцарии) и «Импортер», а также их определения. Добавлен символ «CH REP» (Представитель в Швейцарии) с адресом в Швейцарии.
История редакций документа	Обновлена таблица истории изменений.