

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Bruksanvisning

CE **IVD**

Erklæringer om varemerke, patenter og opphavsrett

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

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2019–2023 Cepheid.

Cepheid[®], Cepheid-logoen, GeneXpert[®] og Xpert[®] er varemerker for Cepheid, registrert i USA og andre land.

Alle andre varemerker tilhører sine respektive eiere.

KJØP AV DETTE PRODUKTET OVERFØRER TIL KJØPEREN EN IKKE-OVERFØRBAR RETT TIL Å BRUKE DET I SAMSVAR MED DENNE BRUKSANVISNINGEN. INGEN ANDRE RETTIGHETER OVERFØRES EKSPLISITT, IMPLISITT ELLER VED «ESTOPPEL». VIDERE OVERFØRES DET IKKE NOEN RETTIGHETER TIL VIDERESALG MED KJØP AV DETTE PRODUKTET.

© 2019–2023 Cepheid.

Se Avsnitt 30 Revisjonshistorikk, for en beskrivelse av endringer.

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

Kun til *in vitro* diagnostisk bruk.

1 Proprietært navn

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2 Vanlig navn

Xpert MRSA/SA SSTI

3 Tiltenkt bruk

Cepheid Xpert[®] MRSA/SA hud- og bløtvevsinfeksjonstest (Xpert MRSA/SA SSTI-test) utført i GeneXpert[®] Dx-systemet er en kvalitativ *in vitro* diagnostisk test beregnet på deteksjon av *Staphylococcus aureus* (SA) og methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) fra penselprøver fra hud- og bløtvevsinfeksjon. Testen bruker automatisk sanntids polymerasekjedereaksjon (PCR) til å detektere MRSA-/SA-DNA. Xpert MRSA/SA SSTI-testen er indisert for bruk sammen med andre laboratorietester som mikrobiologidyrking, og kliniske data tilgjengelig for klinikeren som et hjelpemiddel for deteksjon av MRSA/SA fra hud- og bløtvevsinfeksjoner. Xpert MRSA/SA SSTI-testen er ikke beregnet på å overvåke behandling for MRSA-/SA-infeksjoner. Samtidige kulturer for SA og MRSA er nødvendig for å gjenvinne organismer for følsomhetstesting eller epidemiologisk typebestemmelse.

4 Oppsummering og forklaring

Staphylococcus aureus (SA) er et veldokumentert humant opportunistisk patogen og et viktig nosokominalt patogen som forårsaker en rekke sykdommer. Noen av sykdommene involverer hud- og bløtvevsinfeksjoner, inkludert karbunkler og furunkler, og postoperative sårinfeksjoner på ulike steder. Som et nosokominalt patogen har *S. aureus* vært en viktig årsak til morbiditet og mortalitet. *S. aureus*-infeksjoner er ofte akutte og pyogene, og hvis de ikke behandles, kan de spre seg til omliggende vev eller via bakteremi til metastasesteder (involverer andre organer). Noen av de mer alvorlige infeksjonene som forårsakes av *S. aureus*, er bakteremi, lungebetennelse, osteomyelitt, akutt endokarditt, toksisk sjokk-syndrom, matforgiftning, myokarditt, perikarditt, cerebritt, meningitt, chorioamnionitt, Ritters sykdom, og abscesser på muskler, det urogenitale systemet, sentralnervesystemet og ulike intraabdominale organer.¹

På begynnelsen av 1950-tallet hindret opptak og spredning av plasmider som produserer beta-laktamase, effektiviteten til penicillin for behandling av *S. aureus*-infeksjoner. I 1959 ble methicillin, et syntetisk penicillin, introdusert. I 1960 ble det imidlertid identifisert stammer av methicillin-resistent *S. aureus*. Det ble bestemt at dette var et resultat av at *S. aureus* tok opp *mecA*-genet. I USA i dag er MRSA ansvarlig for cirka 25 % av nosokomiale infeksjoner, og rapporter om MRSA-smitte i samfunnet øker, noe som fører til betydelig morbiditet og mortalitet. Det er rapportert mortalitet på 33 % og 16 % som kan tilskrives bakteremi med henholdsvis MRSA og methicillin-følsom *S. aureus* (SA). Det er også økende kostnadsbetyrninger for MRSA-infeksjoner. I forsøk på å begrense spredningen av disse infeksjonene utarbeides og implementeres det kontrollstrategier og -retningslinjer i helsemiljøer. Kontroll av MRSA er et hovedfokus for de fleste infeksjonskontrollprogrammer på sykehus. For tiden er standardmetoden for å detektere MRSA og SA dyrking, noe som er svært arbeidskrevende og kan kreve flere dager for å generere et definitivt resultat.^{2,3,4,5,6,7}

5 Prosedyrens prinsipper

GeneXpert -systemene automatiserer og integrerer rensing av prøver, amplifikasjon av nukleinsyre og deteksjon av målsekvensen i enkle eller komplekse prøver ved bruk av sanntids PCR-analyser. Systemene består av et instrument, en PC og forhåndsinstallert programvare for å kjøre tester og vise resultatene. Systemene krever bruk av patroner til engangsbruk som inneholder PCR-reagensene, og hvor PCR-prosessen utføres. Siden patronene er selvstendige, minimaliseres krysskontaminasjon mellom prøvene. Se den relevante *operatørhåndboken for GeneXpert Dx-systemet* eller *operatørhåndboken for GeneXpert Infinity-systemet for en fullstendig beskrivelse av systemene*.

Xpert MRSA/SA SSTI-testen inkluderer reagenser for deteksjon av MRSA og SA samt en prøveprosesseringskontroll (SPC) for å kontrollere for tilstrekkelig prosessering av målbakterien og for å overvåke tilstedeværelsen av hemmere i PCR-reaksjonen. SPC sikrer også at tilstandene for PCR-reaksjonen (temperatur og tid) er egnet for amplifikasjonsreaksjonen, og at PCR-reagensene fungerer. Probekontrollen (PCC) verifiserer reagensrehydrering, PCR-rørfylling i patronen, probeintegritet og fargestoffstabilitet.

Primerne og probene i Xpert MRSA/SA SSTI-testen detekterer proprietære sekvenser for stafylokokkprotein A (*spa*), genet for methicillin-resistens (*mecA*) og stafylokokkassettkromosomet (*SCCmec*) som er satt inn i SA-kromosomstedet *attB*.

6 Reagenser og instrumenter

6.1 Materialer som følger med

Xpert MRSA/SA SSTI-settet inneholder nok reagenser til å prosessere 10 prøver eller kvalitetskontrollprøver. Settet inneholder følgende:

Xpert MRSA/SA SSTI-patroner med integrerte reaksjonsrør	10
• Perle 1, perle 2 og perle 3 (frysetørket)	1 per patron
• Reagens 1	3,0 ml per patron
• Reagens 2 (natriumhydroksid)	3,0 ml per patron
Xpert MRSA/SA SSTI elueringsreagenspose	10 × 2,0 ml per pose
• Elueringsreagens (Guanidinium thiocyanate)	
CD	1 per sett
• Analysedefinisjonsfil (ADF)	
• Instruksjoner for å importere ADF i GX-programvaren	
• Bruksanvisning (pakningsvedlegg)	

Merk Sikkerhetsdatablad (SDS) er tilgjengelig på www.cepheid.com eller www.cepheidinternational.com på fanen **STØTTE (SUPPORT)**.

Merk Det bovine serumalbuminet (BSA) i perlene i dette produktet er utelukkende produsert av bovint plasma fra USA. Intet drøvtyggerprotein eller annet animalsk protein ble gitt til dyrene; dyrene besto testing ante og post mortem. Det var ingen blanding av materialet med andre animalske materialer under behandlingen.

6.2 Oppbevaring og håndtering

- Oppbevar Xpert MRSA/SA SSTI-patroner og reagenser ved 2–28 °C.
- Ikke bruk reagenser eller patroner som har gått ut på dato.
- Ikke åpne en patron før du er klar til å utføre testing.
- Ikke bruk noen reagenser som har blitt grumsete eller misfarget.

7 Nødvendige materialer som ikke følger med

- GeneXpert instrumentsystemet (katalognummer varierer etter konfigurasjon): GeneXpert-instrument, datamaskin med proprietær GeneXpert-programvare versjon 4.3 eller nyere, håndholdt strekkodeleser og operatørhåndbok
- Skriver: Hvis det er behov for skriver, kontaktes Cepheids tekniske brukerstøtte for å arrangere kjøp av en anbefalt skriver.
- Cepheid prøvetakingsenhet (900-0370) eller Copan-ekvivalent
- Vortex-blander
- Overføringspipetter til engangsbruk
- Sterilt gasbind


8 Tilgjengelige materialer som ikke følger med

KWIK-STIKs™ fra Microbiologics, katalognr. 0158MRSA og katalognr. 0360SA som eksterne positive kontroller og nr. 0371MSSE (methicillin-følsom *Staphylococcus epidermidis*) som ekstern negativ kontroll.

9 Advarsler og forholdsregler

- Håndter alle biologiske prøver, inkludert brukte patroner og reagenser, som om de kan overføre smittsomme agenser. Siden det ofte er umulig å vite hvilke som kan være smittsomme, skal alle biologiske prøver behandles med standard forholdsregler. Retningslinjer for håndtering av prøver er tilgjengelig fra U.S. Centers for Disease Control and Prevention⁸ og Clinical and Laboratory Standards Institute⁹.
- I en blandet kultur som inneholder MRSA/SA og andre organismer (f.eks. gramnegative staver, sopp), kan resultatene være falskt negative eller variable avhengig av konsentrasjonen av MRSA/SA som er til stede, spesielt hvis konsentrasjonen av MRSA/SA er i nærheten av testens LoD.
- Følg institusjonens sikkerhetsprosedyrer for arbeid med kjemikalier og håndtering av biologiske prøver.
- Xpert MRSA/SA SSTI-testen kan detektere MRSA- og/eller SA-DNA fra ikke-levedyktige organismer. Sannsynligheten for at dette oppstår, øker for pasienter som går på antibiotika.
- Xpert MRSA/SA SSTI-testen gir ikke følsomhetstestingsresultater for antimikrobielle midler. Det trengs mer tid for å dyrke og utføre følsomhetstesting.
- Ikke erstatt Xpert MRSA/SA SSTI-testreagensen med andre reagenser.
- Ikke åpne Xpert MRSA/SA SSTI-testpatronens lokk bortsett fra når du tilsetter prøve og reagens eller utfører en ny test.
- Ikke bruk en patron som har falt eller som har blitt ristet etter at du har tilsatt prøven og reagensen.
- Ikke bruk en patron som har et skadet reaksjonsrør.
- Hver Xpert MRSA/SA SSTI-testpatron til engangsbruk brukes til å prosessere én test. Brukte patroner skal ikke gjenbrukes.
- Biologiske prøver, overføringsenheter og brukte patroner skal anses som i stand til å overføre smittsomme agenser og krever standard forholdsregler. Følg institusjonens miljøavfallsprosedyrer for riktig avhending av brukte patroner og ubrukte reagenser. Disse materialene kan utvise egenskaper til kjemisk farlig avfall som krever spesifikk nasjonal eller regional avhending. Hvis nasjonale eller regionale forskrifter ikke gir klare retningslinjer for riktig avhending, skal biologiske prøver og brukte patroner avhendes i henhold til WHO's (Verdens helseorganisasjons) retningslinjer for håndtering av medisinsk avfall.
- Ikke åpne lokket på en patron før du er klar til å utføre testing.

10 Kjemiske farer^{17,18}

- UN GHS farepiktogram: 
- Signalord: ADVARSEL
- UN GHS faresetninger
 - Farlig ved svelging.
 - Irriterer huden.
 - Gir alvorlig øyeirritasjon.
- UN GHS sikkerhetssetninger
 - Forebygging

- Vask grundig etter bruk.
- Ikke spis, drikk eller røyk ved bruk av produktet.
- Unngå utslipp til miljøet.
- Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
- **Tiltak**
 - VED HUDKONTAKT: Vask med mye såpe og vann.
 - Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt.
 - Særlig behandling, se supplerende førstehjelpsinformasjon.
 - Ved hudirritasjon: Søk legehjelp.
 - VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.
 - Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp.
 - VED SVELGING: Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER eller en lege ved ubehag.
 - Skyll munnen.
- **Oppbevaring Avhending**
 - Avhend innhold og/eller beholder i samsvar med lokale, regionale, nasjonale og/eller internasjonale forskrifter.

11 Prøvetaking og transport og oppbevaring av prøver

Penselprøver av hud- og bløtvevsinfeksjoner kan tas med Cepheid prøvetakingsenhet i henhold til brukerinstusjonens standardprosedyrer. Penselprøvene plasseres tilbake i plasttransportrøret (flytende Stuarts-medium, Cepheid prøvetakingsenhet eller Copan anbefales), oppbevares ved romtemperatur og sendes til GeneXpert-testområdet for prosessering i løpet av neste dag. Den gjenværende utestede penselprøven for mikrobiologidyrking skal plasseres i egnede transportsystemer og dyrkes innen 4 dager. Hvis prøven ikke sendes i løpet av neste dag, skal den transporteres på is. Alternativt kan penselprøvene oppbevares ved 2–8 °C for testing opptil 5 dager.

12 Mikrobiologidyrking

Følg laboratoriets gjeldende standardprosedyrer for dyrkingsmetoder for SSTI. For dyrking skal gjenværende utestede penselprøver plasseres i egnede transportsystemer og dyrkes innen 4 dager.

13 Prosedyre

13.1 Klargjøre patronen

Viktig Start testen innen 15 minutter etter at reagensene er tilsatt i patronen.

Slik tilsetter du prøven og elueringsreagensen i patronen:

1. Ta patronen og en elueringsreagens ut av pakningen.
2. Ta prøvetakingspinnen ut av transportbeholderen.

Merk Bruk sterilt gasbind til å håndtere prøvetakingspinnen for å minimere risikoen for kontaminasjon.

3. Sett prøvetakingspinnen inn i røret med elueringsreagensen og brekk av prøvetakingspinnen.
4. Lukk lokket på elueringsrøret og vortex-bland ved høy hastighet i 10 sekunder.
5. Åpne lokket på patronen. Bruk en steril overføringspipette til å overføre hele innholdet av elueringsreagensen til prøvekompartimentet i Xpert MRSA/SA SSTI-patronen.
6. Lukk lokket på patronen.



Figur 1. Xpert MRSA/SA SSTI-patron (sett ovenfra).

13.2 Starte testen

Viktig Sørg for at analysedefinisjonsfilen for Xpert MRSA/SA SSTI-analysen er importert i programvaren før du starter testen.

Dette avsnittet inneholder standardtrinnene for å bruke GeneXpert instrumentsystemet. Se *operatørhåndboken for GeneXpert Dx-systemet* eller *operatørhåndboken for GeneXpert Infinity for detaljerte instruksjoner*.

1. Slå på GeneXpert instrumentsystemet:

Merk Trinnene du følger, kan avvike hvis systemadministratoren endret systemets standard arbeidsflyt.

- Hvis GeneXpert Dx-instrumentet brukes, slå først på instrumentet og slå deretter på datamaskinen. GeneXpert-programvaren vil starte automatisk eller kan kreve at du dobbeltklikker på snarveikonet til GeneXpert Dx-programvaren på skrivebordet i Windows®.
 - eller
 - Hvis GeneXpert Infinity-instrumentet brukes, slå på instrumentet. GeneXpert-programvaren starter automatisk eller kan kreve at du dobbeltklikker på snarveikonet til Xpertise-programvaren på skrivebordet i Windows®.
2. Logg på programvaren til GeneXpert instrumentsystemet med ditt brukernavn og passord.
 3. Klikk på (GeneXpert Dx) eller **Bestillinger (Orders)** og **Bestill test (Order Test)** (Infinity) i vinduet til GeneXpert Dx-systemet. Vinduet Opprett test (Create Test) åpnes.
 4. Skann pasient-ID-en (valgfritt). Hvis du skriver inn pasient-ID-en, må du passe på at den skrives inn riktig. Pasient-ID-en er knyttet til testresultatene og vises i vinduet Vis resultater (View Results).
 5. Skann eller skriv inn prøve-ID-en. Hvis du skriver inn prøve-ID-en, må du passe på at den skrives inn riktig. Prøve-ID-en (Sample ID) er knyttet til testresultatene og vises i vinduet Vis resultater (View Results).
 6. Skann strekkoden på Xpert MRSA/SA SSTI-patronen. Programvaren bruker strekkodeinformasjonen til automatisk å fylle ut følgende felt: Velg analyse (Select Assay), Reagensparti-ID (Reagent Lot ID), Patronserienummer (Cartridge SN) og Utløpsdato (Expiration Date).

Merk Hvis strekkoden på Xpert MRSA/SA SSTI-patronen ikke kan skannes, gjentas testen med en ny patron.

7. Klikk på **Start test (Start Test)** (GeneXpert Dx) eller **Send (Submit)** (Infinity) i vinduet til GeneXpert Dx-systemet. I dialogboksen som vises, skriver du inn passordet ditt.
8. For GeneXpert Infinity-systemet plasseres patronen på transportbåndet. Patronen blir automatisk lastet inn, testen vil kjøre, og den brukte patronen vil plasseres i avfallsbeholderen.
- eller
- For GeneXpert Dx-instrumentet:
 - a. Åpne luken med den blinkende grønne lampen på instrumentmodulen og last inn patronen.
 - b. Lukk luken. Testen starter, og den grønne lampen slutter å blinke. Når testen er ferdig, slukker lampen.

- c. Vent til systemet frigjør låsen på luken før du åpner modulluken og fjerner patronen.
- d. De brukte patronene skal kastes i de riktige prøveavfallsbeholderne i samsvar med institusjonens standard praksis.

14 Vise og skrive ut resultater

Se *operatorhåndboken for GeneXpert Dx-systemet* eller *operatorhåndboken for GeneXpert Infinity-systemet* for mer detaljerte instruksjoner om hvordan du viser og skriver ut resultatene.

1. Klikk på **Vis resultater (View Results)** -ikonet for å vise resultatene.
2. Når testen er ferdig, klikker du på knappen **Rapport (Report)** i vinduet Vis resultater (View Results) for å vise og/eller generere en PDF-rapportfil.

15 Kvalitetskontroll

15.1 Innebygde kvalitetskontroller

Hver test inkluderer en prøveprosesseringskontroll (SPC eller BG3 i visningsresultatskjermen for brukeren på administrasjonsnivå) og probekontroll (PCC).

- **Prøveprosesseringskontroll (SPC)** – Sikrer at prøven ble prosessert riktig. SPC inneholder sporer av *Bacillus globigii* i form av en tørr sporekake som er inkludert i hver patron for å verifisere tilstrekkelig prosessering av Xpert MRSA/SA SSTI-testen. SPC verifiserer at det har forekommet lysring av *Staphylococcus aureus* hvis organismene er til stede, og verifiserer at prøveprosesseringen er tilstrekkelig. Denne kontrollen detekterer også prøveassosiert hemming av sanntids PCR-analysen, sikrer at forholdene for PCR-reaksjonen (temperatur og tid) er egnet for amplifikasjonsreaksjonen, og at PCR-reagensene fungerer som de skal. SPC skal være positiv i en negativ prøve og kan være negativ eller positiv i en positiv prøve. SPC består hvis den oppfyller de validerte godkjenningskriteriene.
- **Probekontroll (PCC)** – Før PCR-reaksjonen starter, måler GeneXpert-systemet fluorescenssignalet fra probene for å overvåke rehydrering av perler, fylling av reaksjonsrør, probeintegritet og fargestoffstabilitet. Probekontrollen består hvis den oppfyller de tildelte godkjenningskriteriene.

15.2 Eksterne kontroller

KWIK-STIKs (Microbiologics, katalognr. 0158MRSA [SCC*mec* type II] og katalognr. 0360SA som positive kontroller og nr. 0371MSSE som negativ kontroll) kan brukes til opplæring, ferdighetstesting og eksterne QC for GeneXpert-systemet. MRSA-stammer som representerer andre SCC*mec*-typer, hvis tilgjengelig, kan brukes som ytterligere eksterne positive kontroller for å overvåke analyseprimere og -prober som ikke kontrolleres direkte i analysen. Eksterne kontroller kan brukes i samsvar med forskrifter fra akkrediteringsinstitusjoner og styresmakter som relevant. Følg prosedyren for Microbiologics eksterne kontroll beskrevet nedenfor:

1. Riv opp posen ved hakket og ta ut KWIK-STIK.
2. Klem bunnen av ampullen i lokket for å frigjøre hydreringsvæsken.
3. Hold vertikal og tapp for å hjelpe væsken med å renne gjennom skaftet ned i bunnen av enheten som inneholder pelleten.
4. Knus pelleten og klem forsiktig på kammeret i bunnen så pelleten med frysetørkede celler løses opp lettere.
5. Dra fra hverandre KWIK-STIK for å frigjøre prøvetakingspinnen, og sett prøvetakingspinnen inn i røret som inneholder elueringsreagensen (skrukork).
6. KWIK-STIK-prøvetakingspinnen er nå klar for Xpert MRSA/SA SSTI-testing.
7. Hvis den eksterne QC-en ikke presterer som forventet, gjentar du testen av den eksterne kontrollen og/eller kontakter Cephheid for hjelp.

Eksempler på testresultater med Xpert MRSA/SA SSTI vises i Figur 2 til Figur 5.

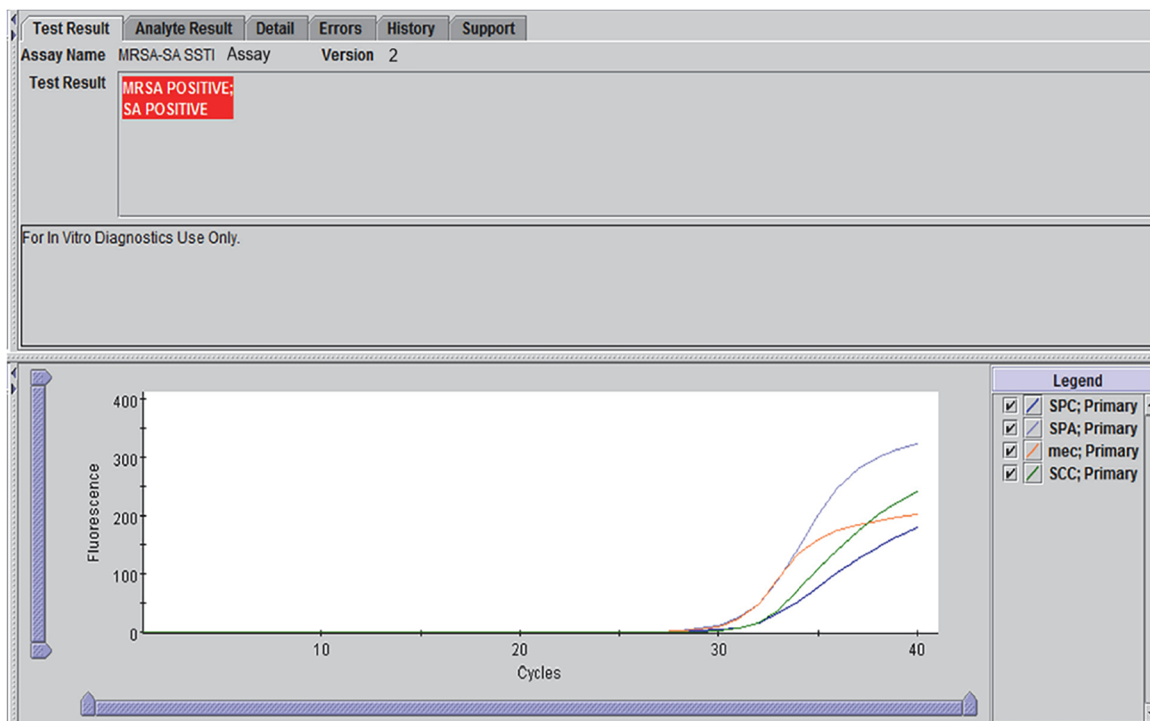
16 Tolkning av resultater

Resultatene interpoleres av GeneXpert-systemet ut fra målte fluorescenssignaler og innebygde beregningsalgoritmer og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)**. Mulige resultater er:

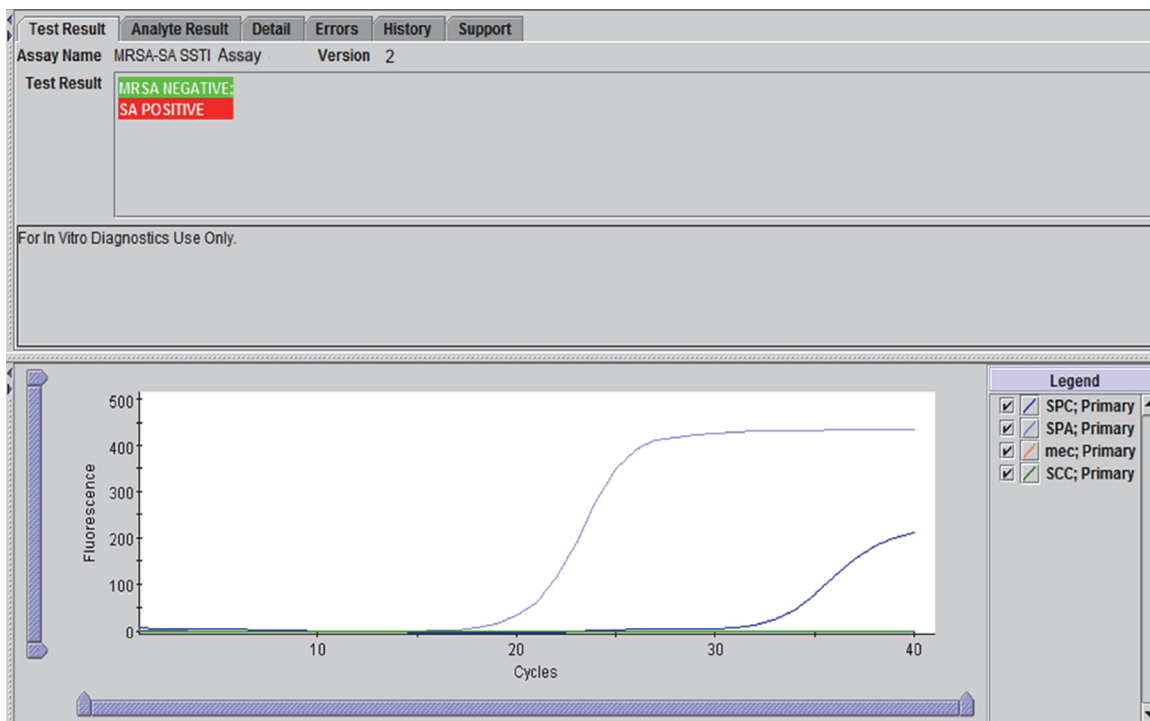
Tabell 1. MRSA/SA SSTI – resultater og tolkning

Resultat	Tolkning
MRSA POSITIV / SA POSITIV (MRSA POSITIVE/ SA POSITIVE) Figur 2	<p>Xpert MRSA/SA SSTI-testen kan detektere MRSA- og/eller SA-DNA fra ikke-levedyktige organismer.</p> <p>Mål-DNA-sekvenser for MRSA er detektert / mål-DNA-sekvens for SA er detektert.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA POSITIV (MRSA POSITIVE) – alle MRSA-mål (<i>spa</i>, <i>mecA</i> og <i>SCCmec</i>) har en syklusterskel (Ct) innenfor det gyldige området og endepunkt over minimumsinnstillingen. • SPC – IR (NA) (ikke relevant); SPC ignoreres fordi amplifikasjon av MRSA kan konkurrere med denne kontrollen. • Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått.
MRSA NEGATIV / SA POSITIV (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) Figur 3	<p>Xpert MRSA/SA SSTI-testen kan detektere MRSA- og/eller SA-DNA fra ikke-levedyktige organismer.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mål-DNA-sekvenser for MRSA er ikke detektert / mål-DNA-sekvens for SA er detektert. • SA POSITIV (SA POSITIVE) – SA-målet (<i>spa</i>) har en Ct innenfor det gyldige området og endepunkt over minimumsinnstillingen. Mål-DNA for <i>SCCmec</i> er ikke detektert, mål-DNA for <i>mecA</i> kan eller kan ikke være detektert, eller mål-DNA for <i>SCCmec</i> er detektert og mål-DNA for <i>mecA</i> er ikke detektert («tom kassett»). • SPC – IR (NA) (ikke relevant); SPC ignoreres fordi amplifikasjon av SA kan konkurrere med denne kontrollen. • Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått. <p>Et positivt testresultat indikerer ikke nødvendigvis tilstedeværelse av levedyktige organismer. Det er imidlertid presumptivt for tilstedeværelse av MRSA eller SA.</p>
MRSA NEGATIV / SA NEGATIV (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) Figur 4	<p>Mål-DNA-sekvensen for <i>Staphylococcus aureus</i> er ikke detektert. SPC oppfylder godkjenningkriteriene.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NEGATIV (NEGATIVE) – mål-DNA for <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>spa</i>) er ikke detektert. Mål-DNA for <i>mecA</i> kan eller kan ikke være detektert, eller mål-DNA for <i>SCCmec</i> kan eller kan ikke være detektert. • SPC – BESTÅTT (PASS); SPC har en Ct innenfor det gyldige området og endepunkt over minimumsinnstillingen for endepunkt. • Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått. <p>Et falskt negativt resultat for MRSA (et resultat med «MRSA NEGATIV; SA POSITIV (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)» i stedet for «MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)») kan oppnås hvis både MRSA og SA er til stede i prøven med et MRSA:SA-forhold på $1:1 \times 10^6$ eller mer.</p> <p>I de kliniske studiene hadde 5 av de 246 MRSA-positive kulturene blandede infeksjoner av MRSA og SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifiserte 3 av de 5 blandede infeksjonene som MRSA-positive og 2 av de 5 som SA-positive / MRSA-negative.</p>

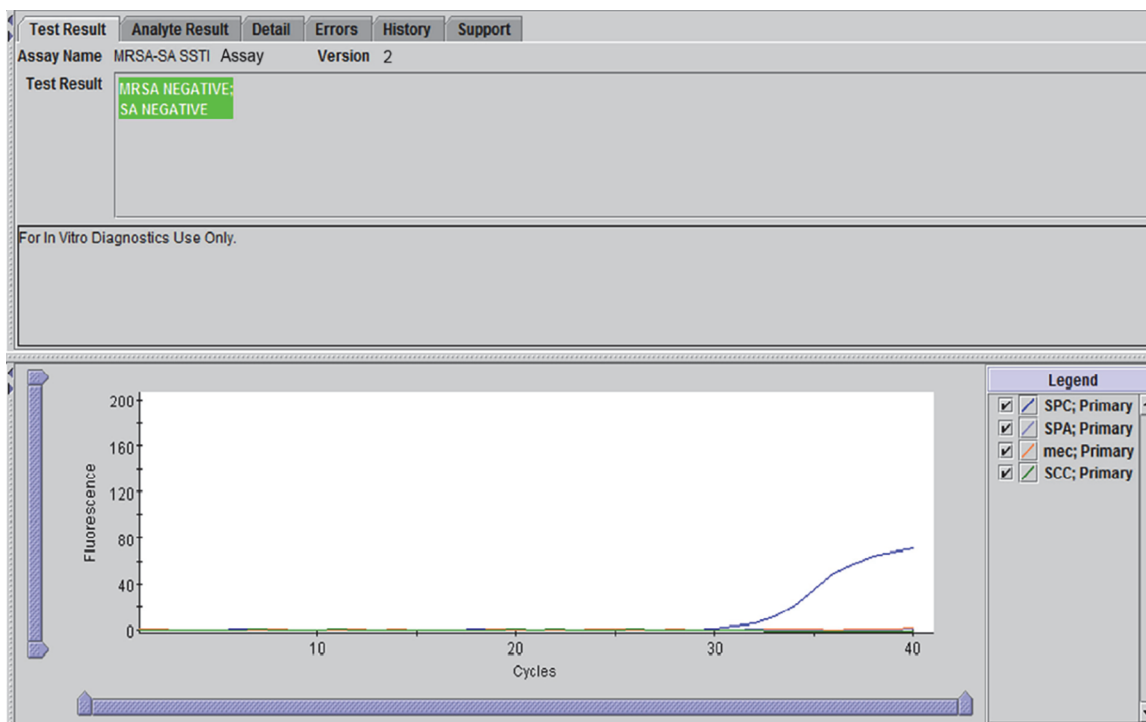
Resultat	Tolkning
UGYLDIG (INVALID) Figur 5	<p>Tilstedeværelse eller fravær av mål-DNA-sekvenser for MRSA/SA kan ikke bestemmes, test på nytt i henhold til instruksjonene i avsnittet under. SPC oppfyller ikke godkjenningkriteriene, prøven ble ikke skikkelig prosessert, eller PCR var hemmet.</p> <ul style="list-style-type: none"> • UGYLDIG (INVALID) – Tilstedeværelse eller fravær av <i>Staphylococcus aureus</i>-DNA kan ikke bestemmes. • SPC – IKKE BESTÅTT (FAIL) – SPC-målrultatet er negativt, og SPC Ct er ikke innenfor gyldig område, og endepunktet er under minimumsinnstillingen. • Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått.
FEIL (ERROR)	<p>Tilstedeværelse eller fravær av mål-DNA-sekvenser for MRSA/SA kan ikke bestemmes, test på nytt i henhold til instruksjonene i avsnittet under. Probekontrollen ble ikke bestått, noe som sannsynligvis er på grunn av at et reaksjonsrør ikke ble fylt riktig, et probeintegritetsproblem, eller fordi maksimumsgrensene for trykk ble overskredet.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA – INTET RESULTAT (NO RESULT) • SA – INTET RESULTAT (NO RESULT) • SPC – INTET RESULTAT (NO RESULT) • Probekontroll – IKKE BESTÅTT (FAIL)*; ett eller flere av probekontrollresultatene er ikke bestått. <p>* Hvis probekontrollen ble bestått, er feilen forårsaket av en systemkomponentsvikt.</p>
INTET RESULTAT (NO RESULT)	<p>Tilstedeværelse eller fravær av mål-DNA-sekvenser for MRSA/SA kan ikke bestemmes, test på nytt i henhold til instruksjonene i avsnittet under. Det ble innhentet utilstrekkelig data for å produsere et testresultat. Dette kan for eksempel oppstå hvis operatøren stoppet en test mens den kjørte.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA – INTET RESULTAT (NO RESULT) • SA – INTET RESULTAT (NO RESULT) • SPC – INTET RESULTAT (NO RESULT) • Probekontroll – IR (ikke relevant (NA (not applicable)))



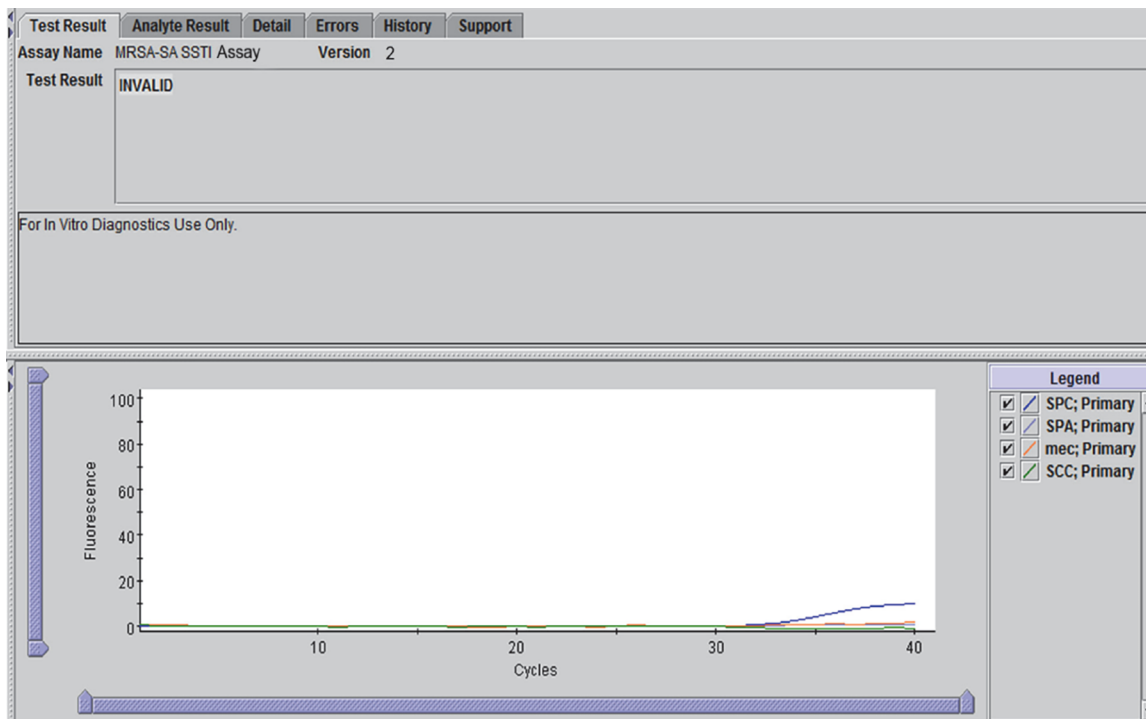
Figur 2. Et eksempel på et MRSA positiv / SA positiv-resultat.



Figur 3. Et eksempel på et MRSA negativ / SA positiv-resultat.



Figur 4. Et eksempel på et MRSA negativ / SA negativ-resultat.



Figur 5. Et eksempel på et ugyldig resultat.

17 Grunner til å gjenta analysen

17.1 Grunner til å gjenta testen

Test på nytt med en ny patron (patronen skal ikke gjenbrukes) og nye reagenser. Utfør prosedyren for å teste på nytt innen 3 timer etter et ubestemmelig resultat.

- Et **UGYLDIG (INVALID)** resultat indikerer at kontroll-SPC-en ikke besto. Prøven ble ikke prosessert skikkelig, eller PCR ble hemmet.
- Et **FEIL (ERROR)** resultat indikerer at probekontrollen ikke har bestått, og at analysen ble avbrutt, muligens på grunn av at reaksjonsrøret ikke ble fylt riktig, et reagensprobeintegritetsproblem ble detektert, eller fordi maksimumsgrensene for trykk ble overskredet.
- Et **INTET RESULTAT (NO RESULT)** indikerer at det ble innhentet utilstrekkelige data. For eksempel at operatøren stoppet en test mens den kjørte.
- Hvis en ekstern QC ikke presterer som forventet, gjentar du testen av den eksterne kontrollen og/eller kontakter Cepheid for hjelp.

17.2 Prosedyre for å teste på nytt

Test på nytt med en ny patron (patronen skal ikke gjenbrukes) og nytt elueringsreagensrør.

Slik utføres en ny test hvis det testes på nytt innen 3 timer etter et ubestemmelig resultat*:

1. Overfør gjenværende innhold fra prøvekommeret til en ny elueringsreagens med en overføringspipette til engangsbruk.
2. Vortex-bland og tilsett hele innholdet av elueringsreagensen i prøvekommeret til den nye MRSA/SA SSTI-testpatronen.
3. Lukk lokket og start den nye testen.

* Hvis den nye testen ikke kan utføres innen 3 timer, brukes en ny prøve.

18 Begrensninger

- Ytelsen til Xpert MRSA/SA SSTI-testen er kun validert med prosedyrene oppgitt i dette pakningsvedlegget. Modifikasjoner av disse prosedyrene kan påvirke testens ytelse. Resultater fra Xpert MRSA/SA SSTI-testen skal tolkes sammen med andre laboratoriedata og kliniske data som er tilgjengelig for klinikeren.
- Xpert MRSA/SA SSTI-testen kan detektere MRSA- og/eller SA-DNA fra ikke-levedyktige organismer. Sannsynligheten for at dette oppstår, øker for pasienter som går på antibiotika. I den sentrale kliniske studien var forekomsten av falske positive (i forhold til dyrking) for deteksjon av SA hos pasienter som brukte antibiotika, mindre enn 3 uker før testing med Xpert MRSA/SA, 13,8 %. Forekomsten av falske positive (i forhold til dyrking) for deteksjon av MRSA hos pasienter som brukte antibiotika, mindre enn 3 uker før testing med Xpert MRSA/SA, var 9,5 %.
- Et positivt testresultat indikerer ikke nødvendigvis tilstedeværelse av levedyktige organismer. Det er imidlertid presumptivt for tilstedeværelse av MRSA eller SA.
- Testing med Xpert MRSA/SA SSTI-testen skal brukes som et tillegg til andre tilgjengelige metoder.
- Feilaktige testresultater kan oppstå fra feil prøvetaking, at de anbefalte prosedyrene for prøvetaking og håndtering og oppbevaring av prøver ikke følges, teknisk feil, forbytting av prøver eller fordi antall organismer i prøven er for lite til å detekteres av testen. Instruksjonene i dette vedlegget må følges nøye for å unngå feilaktige resultater.
- Siden deteksjonen av MRSA og SA avhenger av antall organismer som er til stede i prøven, er pålitelige resultater avhengig av riktig prøvetaking og håndtering og oppbevaring av prøven.
- Mutasjoner eller polymorfismer i primer- og probebindingsregioner kan påvirke deteksjon av nye eller ukjente MRSA-varianter og resultere i et falskt negativt resultat.
- I prøver som inneholder både MRSA og SA, er det ikke sikkert at Xpert MRSA/SA SSTI-testen detekterer de methicillin-resistente SA-organismene. (I den sentrale kliniske studien detekterte ikke Xpert MRSA/SA SSTI-testen 2 av de 5 MRSA kulturpositive prøvene i situasjoner med dokumenterte blandede MRSA/SA-infeksjoner.)
- I en blandet kultur er analytisk LoD for MRSA variabel når ekstremt høye konsentrasjoner av SA er til stede. Konkurransen fra SA ble observert ved et MRSA:SA-forhold på $1:1 \times 10^6$. I de kliniske studiene hadde 5 av de 246 MRSA-positive kulturene blandede infeksjoner av MRSA og SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifiserte 3 av de 5 blandede infeksjonene som MRSA-positive og 2 av de 5 som SA-positive / MRSA-negative.
- Hemming av MRSA/SA SSTI-testen er observert med følgende stoffer: StaphA +Septic (5 % masse-/volumprosent), hydrokortison (5 % masse-/volumprosent) og antibakteriell håndsprit (5 % masse-/volumprosent).

- Prøver som inneholder merkurokrom, kan ikke brukes grunnet dens fluorescerende natur.
- Xpert MRSA/SA SSTI-testen vil generere et falskt positivt MRSA-resultat ved testing av en SSTI-prøve med blandet infeksjon som inneholder både methicillin-resistent koagulase-negativ *Staphylococcus* (MRCNS) og methicillin-følsom *Staphylococcus aureus* med tom kassett (SA).
- På grunn av fortynningsfaktoren forbundet med prosedyren for å teste på nytt er det mulig at MRSA- eller SA-positive prøver som er svært nær eller ved deteksjonsgrensen (LoD) til Xpert MRSA/SA SSTI-testen, kan resultere i et falskt negativt resultat når den testes på nytt.

19 Interfererende stoffer

I undersøkelsesstudien for Xpert MRSA/SA SSTI-testen ble det observert at 428 av de 848 prøvene inneholdt blod, og at 404 inneholdt andre ikke-spesifikke stoffer, som potensielt kunne interferere med analysen (merk at noen prøver inneholdt mer enn én type potensiell kontaminasjon). Fishers eksakte test utført på dataene generert fra penselprøvene med og uten disse potensielt interfererende stoffene viste at deres tilstedeværelse ikke påvirket testens ytelse.

I en ikke-klinisk studie ble potensielt interfererende stoffer som kan være til stede i kliniske hud- og bløtvevsinfeksjonsprøver, evaluert direkte i forhold til ytelsen til Xpert MRSA/SA SSTI-testen. Potensielt interfererende stoffer i hud- og bløtvevsinfeksjoner kan inkludere, men er ikke begrenset til: blod, puss, plasma, topikale salver (antibiotisk/antiseptisk/smertelindrende), debrideringsmidler og tinkturer. Disse stoffene er oppgitt i Tabell 2 og Tabell 3 med de aktive ingrediensene og konsentrasjonene som ble testet, vist. Hemming av MRSA/SA SSTI-testen er observert med følgende stoffer: StaphA +Septic (5 % masse-/volumprosent), hydrokortison (5 % masse-/volumprosent) og antibakteriell håndsprit (5 % masse-/volumprosent).

Prøver som inneholder merkurokrom, kan ikke brukes grunnet dens fluorescerende natur.

Tabell 2. Potensielt interfererende SSTI-stoffer testet

Stoff	Aktiv ingrediens	% testet
TET-buffer	Kontroll	Kontroll
Buffy coat (sårsurrogat)	Hvite blodlegemer (1,5e9/ml)	50 % (volumprosent)
Fullblod (fritt for MRSA/SA)	I/A	50 % (volumprosent)
Plasma	I/A	50 % (volumprosent)
Neosporin	400 enheter bacitracin 5000 enheter Polymyxin B 3,5 mg neomycin	1 % og 5 % (masse-/volumprosent)
StaphA+Septic	0,2 % benzetoniumklorid, 2,5 % lidokain HCl	1 % og 5 % (masse-/volumprosent)
Hydrokortison	1 % hydrokortison	1 % og 5 % (masse-/volumprosent)
Boil-Ease	20 % benzokain	1 % og 5 % (masse-/volumprosent)
Jodtinktur	2 % jod	50 % (volumprosent)

Tabell 3. Potensielt interfererende SSTI-stoffer testet

Stoff	Aktiv ingrediens	% testet
TET-buffer (kontroll)	Kontroll	Kontroll
Mupirocin	0,2 % benzetoniumklorid, 2,5 % lidokain HCl	5 % (masse-/volumprosent)
Fullblod (fritt for MRSA/SA)	I/A	50 % (volumprosent)
Saltvann	0,65 % natriumklorid	50 % (volumprosent)

Stoff	Aktiv ingrediens	% testet
Antibakteriell håndsprit	62 % etylalkohol	1 % og 5 % (masse-/volumprosent)
70 % isopropylalkohol	70 % isopropylalkohol	50 % (volumprosent)

20 Forventede verdier

I den kliniske studien av Xpert MRSA/SA SSTI ble totalt 848 SSTI-prøver inkludert fra fire store sykehus i USA. Antallet og prosentandelen av positive tilfeller etter referansekulturmetoden, beregnet etter aldersgruppe, presenteres i Tabell 4.

Tabell 4. Observert prevalens av MRSA og SA med dyrking

Aldersgruppe	Total n	MRSA med dyrking		SA med dyrking	
		Antall positive	Observert prevalens	Antall positive	Observert prevalens
Under 3 år	34	11	32,4 %	21	61,8 %
3 til 18 år	100	25	25,0 %	55	55,0 %
19 til 65 år	614	188	30,6 %	300	48,9 %
66 år og eldre	100	22	22,0 %	35	35,0 %

21 Ytelsesegenskaper

21.1 Klinisk ytelse

Ytelsesegenskapene til Xpert MRSA/SA SSTI-testen ble bestemt i en prospektiv undersøkelsesstudie på flere steder ved fire institusjoner i USA ved å sammenligne Xpert MRSA/SA SSTI-testen med referansekultur. Forsøkspersonene inkluderte personer som fikk tatt en penselprøve fra pasientens hud- og bløtvevsinfeksjon for dyrking som en del av sin normale behandling.

Det ble tatt doble penselprøver fra hver forsøksperson. Én penselprøve ble testet med Xpert MRSA/SA SSTI-testen på påmeldingssenteret, og den andre penselprøven ble testet med stedets vanlige metode, og restprøven ble sent til et sentralt laboratorium for referansekulturtesting.

Ved det sentraliserte laboratoriet ble prøven beriket i 24 timer i Trypticase Soy-næringsvæske med 6,5 % NaCl. Trypticase Soy-næringsvæsken ble deretter strøket ut på plater med cefoxitin (for MRSA) og uten cefoxitin (for SA). Hvis enten SA- eller MRSA-platen eller begge viste presumptive kolonier med *S. aureus*, ble koloniene overført til en blodagarplate. Bekreftelse av presumptivt positive kolonier ble utført med katalase, rørkoagulase og gramfarging. *MecA*-mediert oxacillin-resistens ble testet med platediffusjonstest med en 30 µg cefoxitin-plate og avskjæring ved 21/22 mm. Hvis kulturene for både SA- og MRSA-platene ble bestemt å være negative, ble den arkiverte Trypticase Soy-næringsvæsken med 6,5 % NaCl overført til blodagarplate etterfulgt av opparbeiding for SA/MRSA som tidligere beskrevet.

Ytelsen til Xpert MRSA/SA SSTI-testen ble beregnet i forhold til referansekulturreultatene.

21.2 Samlede resultater

Totalt 848 prøver ble testet for MRSA og SA med Xpert MRSA/SA SSTI-testen og dyrking.

Blant de 848 tilfellene inkludert i det kvalifiserte datasettet ble det rapportert antibiotikabruk i løpet av de 3 ukene før prøvetaking for 207 forsøkspersoner, og ingen antibiotikabruk ble bekreftet for 441 forsøkspersoner. For 200 tilfeller var antibiotikastatusen ukjent. Det ble observert en statistisk signifikant reduksjon i positivitetsandelen for SA i dyrkingsresultatene når det ble brukt antibiotika ($p = 0,007$). Dette fenomenet har også blitt rapportert i litteraturen.^{10, 11, 12, 13, 14} Positivitetsandelen for MRSA for dyrking ble også redusert, men i mindre grad ($p = 0,022$). Reduksjonen i positivitet ble ikke observert med Xpert MRSA/SA SSTI-testen når det ble brukt antibiotika, og det ble heller ikke observert

noen hemming i analysen ved tilstedeværelse av topikale antibiotika (se avsnitt 20 Interfererende stoffer). De reduserte positivitetsandelene for MRSA og SA ved dyrking ved tilstedeværelse av antibiotika forårsaket de høyere enn forventet andelene av falske positive som ble observert med Xpert MRSA/SA SSTI-testen.

Fem av de 246 MRSA-positive kulturene hadde blandede infeksjoner av MRSA og SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifiserte 3 av de 5 blandede infeksjonene som MRSA-positive og 2 av de 5 som SA-positive / MRSA-negative.

Ytelsen til Xpert MRSA/SA SSTI-testen er oppsummert i Tabell 5 til Tabell 7.

Tabell 5. MRSA/SA-ytelse hos forsøkspersoner uten antibiotikabruk (i løpet av 3 uker før prøvetaking) kontra referansekultur

Dyrking				
	MRSA+	SA+/MRSA-	Neg / Ingen vekst	Totalt
MRSA+	137 ^a	2	6	145
SA+/MRSA-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Totalt	146	85	210	441

^a 1 av de 137 var blandet infeksjon av MRSA og SA.

^b 2 av de 3 var blandede infeksjoner av MRSA og SA.

Positivt samsvar i prosent (MRSA+) = 93,8; 95 % konfidensintervall = 88,6–97,1

Negativt samsvar i prosent (MRSA+) = 97,3; 95 % konfidensintervall = 94,7–98,8

Positivt samsvar i prosent (SA+/MRSA+) = 95,7; 95 % konfidensintervall = 92,2–97,9

Negativt samsvar i prosent (SA+/MRSA+) = 89,5; 95 % konfidensintervall = 84,6–93,3

Blant forsøkspersoner uten noen antibiotikabruk i løpet av de 3 ukene før prøvetaking identifiserte Xpert MRSA/SA SSTI-testen 93,8 % av prøvene som var positive for MRSA, og 97,3 % av prøvene som var negative for MRSA, i forhold til referansekulturmetoden, og 95,7 % av prøvene som var positive for SA, og 89,5 % av prøvene som var negative for SA, i forhold til referansekulturmetoden.

Blant disse forsøkspersonene uten noen antibiotikabruk var 96,8 % (427/441) vellykket på første forsøk med Xpert MRSA/SA SSTI-testen. De resterende 14 ga ubestemmelige resultater ved første forsøk (6 **UGYLDIG (INVALID)**, 7 **FEIL (ERROR)** og 1 **INTET RESULTAT (NO RESULT)**). Av de 14 ubestemmelige på første forsøk ga alle et resultat ved andre forsøk.

Tabell 6. MRSA/SA-ytelse hos forsøkspersoner med ukjent antibiotikabruk (i løpet av 3 uker før prøvetaking) kontra referansekultur

Dyrking					
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg / Ingen vekst	Totalt
Xpert	MRSA+	47 ^a	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Totalt	50	47	103	200

^a 2 av de 47 var blandede infeksjoner med MRSA og SA

Positivt samsvar i prosent (MRSA+) = 94,0; 95 % konfidensintervall = 83,5–98,7

Negativt samsvar i prosent (MRSA+) = 97,3; 95 % konfidensintervall = 93,3–99,3

Positivt samsvar i prosent (SA+/MRSA+) = 96,9; 95 % konfidensintervall = 91,2–99,4

Negativt samsvar i prosent (SA+/MRSA+) = 88,3; 95 % konfidensintervall = 80,5–93,8

Når det var ukjent om forsøkspersonene tok antibiotika i løpet av de 3 ukene før prøvetaking, identifiserte Xpert MRSA/SA SSTI-testen 94,0 % av prøvene som var positive for MRSA, og 97,3 % av prøvene som var negative for MRSA, i forhold til referansekulturmetoden, og 96,9 % av prøvene som var positive for SA, og 88,3 % av prøvene som var negative for SA, i forhold til referansekulturmetoden.

Blant disse forsøkspersonene med ukjent antibiotikabruk var 97,0 % (194/200) vellykket på første forsøk med Xpert MRSA/SA SSTI-testen. De resterende 6 ga ubestemmelige resultater ved første forsøk (2 **UGYLDIG (INVALID)**, 3 **FEIL (ERROR)** og 1 **INTET RESULTAT (NO RESULT)**). Av de 6 ubestemmelige på første forsøk ga alle et resultat ved andre forsøk.

Tabell 7. MRSA/SA-ytelse hos forsøkspersoner med kjent antibiotikabruk (i løpet av 3 uker før prøvetaking) kontra referansekultur

Dyrking					
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg / Ingen vekst	Totalt
Xpert	MRSA+	44	2	10	56
	SA+/MRSA-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Totalt	50	34	123	207

Positivt samsvar i prosent (MRSA+) = 88,0; 95 % konfidensintervall = 75,7–95,5

Negativt samsvar i prosent (MRSA+) = 92,4; 95 % konfidensintervall = 87,0–96,0

Positivt samsvar i prosent (SA+/MRSA+) = 95,2; 95 % konfidensintervall = 88,3–98,7

Negativt samsvar i prosent (SA+/MRSA+) = 76,4; 95 % konfidensintervall = 67,9–83,6

Blant forsøkspersoner med kjent antibiotikabruk i løpet av de 3 ukene før prøvetaking identifiserte Xpert MRSA/SA SSTI-testen 88,0 % av prøvene som var positive for MRSA, og 92,4 % av prøvene som var negative for MRSA, i forhold til referansekulturmetoden, og 95,2 % av prøvene som var positive for SA, og 76,4 % av prøvene som var negative for SA, i forhold til referansekulturmetoden.

Blant disse forsøkspersonene med antibiotikabruk var 96,1 % (199/207) av disse kvalifiserte prøvene vellykket på første forsøk med Xpert MRSA/SA SSTI-testen. De resterende 8 ga ubestemmelige resultater ved første forsøk (5 **UGYLDIG (INVALID)** og 3 **FEIL (ERROR)**). Av de 8 ubestemmelige på første forsøk ga alle et resultat ved andre forsøk.

21.3 Varianter med tom kassett

For at et isolat skal identifiseres som MRSA-positivt med Xpert MRSA/SA SSTI-testen må testen for *spa* være positiv samt testen for *mecA* og *SCCmec*. Et isolat som er positivt for *spa* og *SCCmec*, men ikke *mecA*, rapporteres som SA siden det er methicillin-følsomt. Denne situasjonen kan oppstå når den delen av *SCCmec*-elementet som inneholder *mecA*, er eksidert, men endene av dette mobile elementet fortsatt er på plass, noe som gir et positivt *SCCmec*-signal. Disse isolatene kalles noen ganger «varianter med tom kassett» og er ikke uvanlige i det kliniske miljøet. Betydningen av disse isolatene er potensielt å forvirre en analyse for MRSA som ikke detekterer *mecA*-genet direkte. Xpert MRSA/SA SSTI-testen ble utviklet for å identifisere disse variantene som SA riktig.

Blant de kvalifiserte prøvene inkludert i dataanalysene som presenteres i denne rapporten, passet totalt 16 isolater til tom kassett-profilen, noe som ga positive testresultater for *spa* og *SCCmec*, men ingen *mecA*-deteksjon (Ct = 0) som vist i Tabell 8. Femten (15) av de 16 ble verifisert som sanne MRSA-negative isolater i forhold til dyrking, og 14 av de 16 ble verifisert som sanne positive SA-isolater i forhold til dyrking. Ett isolat ble identifisert som MRSA med dyrking, og 2 isolater var både MRSA- og SA-negative med dyrking.

Tabell 8. Ytelsen til MRSA/SA SSTI kontra referansekultur – varianter med tom kassett

Prøveperson nr.	Xpert-resultat	spa (Ct)	mecA (Ct)	SCCmec (Ct)	Dyrking	Xpert kontra dyrking	
						MRSA	SA
1	SA	23,6	0	26,0	SA	TN	TP
2	SA	14,7	0	16,5	SA	TN	TP
3	SA	20,5	0	34,0	SA	TN	TP
4	SA	18,4	0	21,0	SA	TN	TP
5	SA	15,6	0	28,4	MRSA	FN	TP
6	SA	17,2	0	31,6	SA	TN	TP
7	SA	34,1	0	35,6	Neg	TN	FP
8	SA	29,1	0	33,0	SA	TN	TP
9	SA	12,7	0	23,5	SA	TN	TP
10	SA	18,2	0	27,6	SA	TN	TP
11	SA	18,4	0	22,0	SA	TN	TP
12	SA	25,5	0	27,7	SA	TN	TP
13	SA	20,0	0	22,1	Neg	TN	FP
14	SA	26,0	0	28,3	SA	TN	TP
15	SA	23,9	0	25,7	SA	TN	TP
16	SA	19,9	0	34,0	SA	TN	TP

22 Analytisk ytelse

22.1 Studie av analytisk spesifisitet, kryssreaktivitet

Hundre og fem (105) stammer ble innhentet, kvantifisert og testet med Xpert MRSA/SA SSTI-testen. De 98 kulturene fra American Type Culture Collection (ATCC) og 7 stammene fra Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA) representerer arter som er fylogenetisk beslektet med *Staphylococcus aureus*, eller dem man potensielt kan finne i et sykehusmiljø.

Blant disse var det inkludert methicillin-følsomme koagulasenegative stafylokokker (29) og methicillin-resistente koagulasenegative stafylokokker (9). De testede organismene ble identifisert som enten grampositive (74), gramnegative (28) eller sopp (3). Organismene ble videre klassifisert som enten aerobe (95) eller anaerobe (10).

To (2) eller flere replikater av hvert isolat ble testet ved 1,7–3,2 McFarland-enheter. Under studiens betingelser ble alle isolatene rapportert MRSA-negative og SA-negative; ingen av isolatene ble detektert av Xpert MRSA/SA SSTI-testen. Positive og negative kontroller ble inkludert i studien. Den analytiske spesifisiteten var 100 %.

22.2 Evaluering av BORSA-stammer

Sju (7) velkarakteriserte oxacillin-resistente *Staphylococcus aureus* (BORSA)-stammer i grenseland ble testet, inkluderte én tilsynelatende med «tom kassett» (se over). Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* er resistent mot alle β -laktam-medikamenter gjennom det alternative penicillin-bindende proteinet PBP2a kodet for av *mecA*¹⁵. BORSA-stammene er *mecA*-negative, men har en MIC (minste hemmende konsentrasjon – Minimum Inhibitory Concentration) for oxacillin ≥ 2 og ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$. Det er spesielt verdifullt å skille MRSA fra BORSA for å hindre unødvendig og uegnet bruk av vancomycin og isolasjonsforholdsregler som det ikke er grunn til for pasienter som er infisert med en β -laktam-følsom stamme¹⁶.

Under denne studiens betingelser ble alle de 7 BORSA-isolatene (inkludert isolatet med tilsynelatende «tom kasset») rapportert som MRSA-negative / SA-positive ved både høye og lave cellekonsentrasjoner med Xpert MRSA/SA SSTI-testen. Det ble ikke rapportert noen *mecA*-signaler. Disse resultatene viser at en BORSA-stamme vil bli riktig identifisert som MRSA-negativ / SA-positiv og vil ikke rapportere et falskt positivt MRSA-testresultat med Xpert MRSA/SA SSTI-testen.

22.3 Analytisk sensitivitet

Deteksjonsgrensestudier

Det ble utført studier for å bestemme 95 % konfidensintervaller for den analytiske deteksjonsgrensen (LoD) for *Staphylococcus aureus* (SA)-celler og methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)-celler fortynnet i en surrogatsårmatriks av human opprinnelse. Surrogatsårmatriksen besto av et konsentrat av hvite blodlegemer fremstilt fra fullblod med sentrifugering. Matriksen inneholdt også røde blodlegemer og plasma og en neglisjerbar mengde antikoagulans (CPD ELLER CPDA-1). Deteksjonsgrensen er definert som det laveste antall kolonidannende enheter (CFU) per prøve som reproduserbart kan skilles fra negative prøver med 95 % sikkerhet, eller den laveste konsentrasjonen der 19 av 20 replikater var positive.

For MRSA ble replikater på 20 evaluert ved hver testet MRSA-konsentrasjon (CFU/penselprøve) for 6 individuelle isolater som representerte SCC*mec* type I, II, III, IVa, V og VI. Når de ble kjennetegnet av pulsfeltgelelektroforese (PFGE), var USA100, den vanligste stammen i helseinstitusjoner, og USA400, en av de vanligste stammene i samfunnet, representert.

For SA ble replikater på 20 evaluert ved hver SA-konsentrasjon (CFU/penselprøve) for 3 individuelle SA-isolater. De amerikanske typene USA900 og USA1200 var representert.

Estimatet og konfidensintervallene ble bestemt med logistisk regresjon med data (antall positive resultater per antall replikater på hvert nivå) over området av CFU/penselprøve som ble testet. Konfidensintervallene ble bestemt med estimer av maksimal sannsynlighet på parametrene til den logistiske modellen ved hjelp av varians-kovariansmatrisen for stort utvalg. Punkttestimatene og 95 % øvre og nedre konfidensintervall for LoD for hver SA- og hver MRSA SCC*mec*-type som ble testet, er oppsummert i Tabell 9 og Tabell 10.

Tabell 9. 95 % konfidensintervaller for analytisk LoD – SA

SA-stamme-ID	PFGE	LoD (CFU/penselprøve)	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	ukjent	123	97	188

Tabell 10. 95 % konfidensintervaller for analytisk LoD – MRSA

MRSA-stamme-ID	SCC <i>mec</i> -type	PFGE	LoD (CFU/penselprøve)	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	ukjent	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Resultatene av denne studien indikerer at Xpert MRSA/SA SSTI-testen vil gi et positivt SA-resultat 95 % av gangene med 95 % konfidens for en sårpenselprøve som inneholder 150 CFU, og et positivt MRSA-resultat 95 % av gangene med 95 % konfidens for en sårpenselprøve som inneholder 300 CFU.

Ytterligere hundre og tjueen (121) *Staphylococcus aureus*-stammer ble testet med Xpert MRSA/SA SSTI-testen. 24-timerskulturer ble dyrket i BHI-medium (Brain Heart Infusion-medium) og justert til 0,5 McFarland-enheter. Alle stammene ble testet i triplikat med 100 µl kultur videre fortynnet hundre tusen- til en million-fold.

MRSA- (78) og SA-stammer (43) ble valgt for bredt å representere omfanget av genetisk mangfold som finnes i arten *Staphylococcus aureus* basert på fylogenetisk struktur. Utvalgene representerer hovedavstamminger med vekt på spesifikke klonale komplekser hvor MRSA hovedsakelig observeres. Avstamminger som inneholder MRSA og SA, samt dem som utelukkende inneholder SA, ble inkludert.

Xpert MRSA/SA SSTI-testen identifiserte 116 av 121 stammer riktig. De 5 avvikene ble kjennetegnet med katalase, rørkoagulase og gramfarging. *MecA*-mediert oxacillin-resistens ble vurdert med platediffusjon med en 30 µg cefoxitin-plate og en avskjæringsdiameter på 21/22 mm.

Tre (3) av 78 MRSA-stammer ble rapportert MRSA-negative / SA-positive med Xpert MRSA/SA SSTI-testen. Videre karakterisering indikerer at disse stammene ikke er resistente og ble korrekt rapportert som MRSA-negative / SA-positive.

To (2) av 43 SA-stammer ble rapportert MRSA-positive / SA-positive med Xpert MRSA/SA SSTI-testen. Videre karakterisering indikerer at disse stammene er resistente og ble korrekt rapportert som MRSA-positive / SA-positive.

Hvert av de 12 kjente USA300-isolatene ble korrekt rapportert MRSA-positive og SA-positive som forventet.

23 Evaluering av varianter med tom kassett

Tjueto (22) *Staphylococcus aureus*-isolater identifisert som «varianter med tom kassett» ble testet med Xpert MRSA/SA SSTI-testen. 24-timerskulturer ble justert til 0,5 McFarland-enheter. Alle stammene ble testet fra kulturer som var ytterligere fortyntet 100-fold (høy) og 100 000-fold (lav).

Xpert MRSA/SA SSTI-testen identifiserte alle de 22 isolatene riktig som MRSA-negative og SA-positive. Ved begge de testede cellekonsentrasjonene ble kun Ct-er for *spa*- og *SCCmec*-målene rapportert. Det ble ikke rapportert noen *mecA*-Ct-er.

24 Studie av «carry-over»-kontaminasjon

Det ble utført en studie for å demonstrere at selvstendige GeneXpert-patroner til engangsbruk hindrer «carry-over»-kontaminasjon i negative prøver kjørt etter svært høye positive prøver i samme GeneXpert-modul. Studien besto av en negativ prøve prosessert i samme GeneXpert-modul umiddelbart etter en svært høy MRSA-positiv prøve (omtrent 10^7 CFU/test). Dette ble gjentatt 20 ganger mellom 2 GeneXpert-moduler for totalt 42 kjøring. Det var ikke noen evidens for noen «carry-over»-kontaminasjon. Alle de 21 positive prøvene ble riktig rapportert som MRSA-positive / SA-positive. Alle de 21 negative prøvene ble riktig rapportert som MRSA-negative / SA-negative.

25 Reproduserbarhet

Et panel med 10 prøver med ulike konsentrasjoner av SA, MRSA og *Staphylococcus epidermidis* (negativ) ble testet i duplikat på 10 forskjellige dager på hvert av de tre stedene (10 prøver × 2 ganger/dag × 10 dager × 3 steder). Ett parti Xpert MRSA/SA-sett ble brukt på hvert av de 3 teststedene. Xpert MRSA/SA-tester ble utført i henhold til Xpert MRSA/SA SSTI-testprosedyren.

Tabell 11. Oppsummering av reproduserbarhetsresultater

Prøve-ID	Sted 1	Sted 2	Sted 3	Totalt samsvar
Neg (MSSE)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA høy neg	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,7 % (58/60)
SA lav pos	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
MRSA1 høy neg	100 % (20/20)	90 % (18/20)	100 % (20/20)	96,6 % (58/60)
MRSA1 lav pos	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,6 % (58/60)
MRSA2 høy neg	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
MRSA2 lav pos	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,6 % (58/60)
% totalt samsvar etter sted	100 % (140/140)	97,9 % (137/140)	95,7 % (134/140)	97,9 % (411/420)

Tabell 12. Oppsummering av Ct-verdiresultater per prøvenivå og probe

Nivå	Gjennomsnitt	Standardavvik	%CV
SPC			
MRSA1 høy neg	34,52	0,82	2,36
MRSA2 høy neg	34,46	0,85	2,46
Neg (MSSE)	34,44	0,90	2,62
SA høy neg	34,38	0,92	2,66
spa			
Nivå	Gjennomsnitt	Standardavvik	%CV
MRSA1 lav pos	32,96	0,8	2,44
MRSA2 lav pos	31,05	0,69	2,21
SA lav pos	33,91	0,8	2,35
mecA			
Nivå	Gjennomsnitt	Standardavvik	%CV
MRSA1 lav pos	33,25	0,80	2,40
MRSA2 lav pos	31,50	0,68	2,16
SCCmec			
Nivå	Gjennomsnitt	Standardavvik	%CV
MRSA1 lav pos	34,19	0,90	2,63
MRSA2 lav pos	33,13	0,68	2,05

Det ble utført en ny reproducerbarhetsstudie med et panel på 4 prøver med (SA: 10 × LoD, MRSA1: 10 × LoD, MRSA2: 10 × LoD, og negativ kontroll: *Staphylococcus epidermidis*). Panelene ble testet i duplikat på 10 forskjellige dager på hvert av de tre stedene (4 prøver × 2 ganger/dag × 10 dager × 3 steder). Ett parti Xpert MRSA/SA SSTI-tester ble brukt på hvert av de 3 teststedene. Xpert MRSA/SA SSTI-tester ble utført i henhold til Xpert MRSA/SA SSTI-testprosedyren. Riktige resultater ble oppnådd ved 239 av 240 tester.

Tabell 13. Oppsummering av reproducerbarhetsresultater

Prøve-ID	Sted 1	Sted 2	Sted 3	Totalt samsvar
Neg (MSSE)	100 (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA moderat pos ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
MRSA1 moderat pos ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
MRSA2 moderat pos ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
% totalt samsvar etter sted	100 % (80/80)	100 % (80/80)	98,8 % (79/80)	99,6 % (239/240)

^a 10 × LoD

Tabell 14. Oppsummering av Ct-verdiresultater per prøvenivå og probe

Nivå	Gjennomsnitt	Standardavvik	%CV
SPC			
MRSA1 moderat pos	35,72	1,87	5,24
MRSA2 moderat pos	36,29	2,66	7,34
SA moderat pos	34,55	1,19	3,44
NEG	34,45	1,06	3,09
spa			
Nivå	Gjennomsnitt	Standardavvik	%CV
MRSA1 moderat pos	29,52	1,30	4,40
MRSA2 moderat pos	28,91	1,03	3,57
SA moderat pos	30,59	0,91	2,99
mecA			
Nivå	Gjennomsnitt	Standardavvik	%CV
MRSA1 moderat pos	29,78	1,28	4,29
MRSA2 moderat pos	29,32	1,24	4,22
SCCmec			
Nivå	Gjennomsnitt	Standardavvik	%CV
MRSA1 moderat pos	31,49	1,26	3,99
MRSA2 moderat pos	31,05	1,12	3,59

26 Referanser

- Bannerman TL. 2003 kapittel 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Side 384–404.
- Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al. 2006. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S aureus* in the United States, 2001-2002. An Family Medicine. 4(2):132–137.
- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470–85.
- Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. JAMA 282(19):1745–51.
- Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Diseases 7(2) 323–6.
- Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.
- Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in hospitals. Antimicrobial. Agents Chemother. 51: 4342–4350.
- 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.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (tidligere National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Dokument M29 (se siste versjon).
- Ewig S, Schlochtermeyer M, Göke N, et al. 2002. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions. Chest. 121:1486–1492.
- RG Dotson and SK Pingleton. 1993. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. Chest. 103, 541–546.

12. Souweine B, Veber B, Bedos JP, et al. 1998. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. *Crit Care Med.* Feb;26(2):236–244.
13. Kanegaye JT, Soliemanzadeh P, Bradley JS, et al. 2001. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. *Pediatrics.* 108(5):1169–1174.
14. Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* Sep;131:785–787.
15. Nadarajah J, et. al., Identification of different clonal complexes and diverse amino acid substitutions in penicillin-binding protein 2 (PBP2) associated with borderline oxacillin resistance in Canadian *Staphylococcus aureus* isolates. *J of Med Micro* (2006), 55: 1675–1683.
16. Ribeiro J, et. al., Misclassification of Susceptible Strains of *Staphylococcus aureus* as Methicillin-Resistant *S. aureus* by a rapid Automated Susceptibility Testing System. (1999), 37: 1619–1620.
17. REGULATION (EO) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing. List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2006).
18. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).

27 Cepheids hovedkontorer

Konsernhovedkontor

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Europeisk hovedkontor

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

28 Teknisk assistanse

Innhent følgende informasjon før du kontakter Cepheids tekniske brukerstøtte:

- Produktnavn
- Partinummer
- Instrumentets serienummer
- Feilmeldinger (om det er noen)
- Programversjon og, hvis relevant, nummeret på datamaskinens serviceetikett

USA




Telefon: + 1 888 838 3222
E-post: techsupport@cepheid.com















Frankrike

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

Kontaktinformasjon for alle Cepheids kontorer for teknisk brukerstøtte finnes på nettstedet vårt: www.cepheid.com/en/support/contact-us

29 Symboltabell

Symbol	Betydning
	Katalognummer
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr
	Må ikke gjenbrukes

Symbol	Betydning
	Partikode
	Se bruksanvisningen
	Forsiktig
	Produsent
	Produksjonsland
	Inneholder nok til n tester
	Kontroll
	Utløpsdato
	CE-merking – europeisk samsvar
	Temperaturbegrensning
	Advarsel
	Biologiske risikoer
	Autorisert representant i Sveits
	Importør



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



30 Revisjonshistorikk

Avsnitt	Beskrivelse av endring
Symboltabell	Lagt til symboler og definisjoner for CH REP og importør i symbolforklaringen. Lagt til informasjon med adresse i Sveits for CH REP og importør.
Revisjonshistorikk	Oppdatert revisjonshistorikktabell.