

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Instrucțiuni de utilizare

CE **IVD**

Declarații privind mărci comerciale, brevete și drepturi de autor

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[®], sigla Cepheid, GeneXpert[®] și Xpert[®] sunt mărci comerciale ale Cepheid, înregistrate în SUA și în alte țări.

Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi.

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

© 2019–2023 Cepheid.

Consultați Secțiunea 30, Istoricul revizuirilor pentru o descriere a modificărilor.

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

Utilizare numai pentru diagnosticare *in vitro*.

1 Denumire brevetată

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2 Denumire comună sau obișnuită

Xpert MRSA/SA SSTI

3 Utilizare preconizată

Testul Xpert[®] MRSA/SA de la Cepheid pentru testarea infecțiilor pielii și ale țesuturilor moi (testul Xpert MRSA/SA SSTI) efectuat în sistemul GeneXpert[®] Dx este un test calitativ de diagnosticare *in vitro* destinat detectării *Staphylococcus aureus* (SA) și a *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină (MRSA) din tampoane de infecții ale pielii și ale țesuturilor moi. Testul utilizează reacția de polimerază în lanț automatizată în timp real (PCR) pentru a detecta ADN-ul MRSA/SA. Testul Xpert MRSA/SA SSTI este indicat pentru utilizare împreună cu alte teste de laborator, cum ar fi cultura microbiologică și datele clinice disponibile clinicianului ca ajutor în detectarea MRSA/SA din infecțiile pielii și ale țesuturilor moi. Testul Xpert MRSA/SA SSTI nu este conceput pentru monitorizarea tratamentului infecțiilor cu MRSA/SA. Culturile concomitente pentru SA și MRSA sunt necesare pentru recuperarea organismelor pentru testarea susceptibilității sau genotiparea epidemiologică.

4 Rezumat și explicații

Staphylococcus aureus (SA) este un agent patogen oportunist uman bine documentat și un agent patogen nosocomial major care cauzează o serie de boli. Unele dintre boli implică infecții ale pielii și ale țesuturilor moi, inclusiv carbuncule și furuncule, precum și infecții postoperatorii ale plăgilor din diferite locuri. Ca agent patogen nosocomial, *S. aureus* a fost o cauză majoră de morbiditate și mortalitate. Infecțiile cu *S. aureus* sunt adesea acute și piogene și, dacă nu sunt tratate, se pot răspândi în țesuturile înconjurătoare sau, prin bacteremie, în locuri metastatice (care implică alte organe). Unele dintre cele mai grave infecții produse de *S. aureus* sunt: bacteremie, pneumonie, osteomielită, endocardită acută, sindromul de șoc toxic, intoxicație alimentară, miocardită, pericardită, cerebrită, meningită, corioamnionită, sindromul pielii opărite și abcese musculare, ale tractului urogenital, sistemului nervos central și ale diferitelor organe intraabdominale.¹

La începutul anilor 1950, achiziționarea și răspândirea plasmidelor producătoare de beta-lactamază a contracarat eficacitatea penicilinei pentru tratarea infecțiilor cu *S. aureus*. În 1959, a fost introdusă meticilina, o penicilină sintetică. Cu toate acestea, până în 1960, au fost identificate tulpini de *S. aureus* rezistente la meticilină. Acest lucru s-a dovedit a fi rezultatul dobândirii de către *S. aureus* a genei *mecA*. În SUA astăzi, MRSA este responsabil pentru aproximativ 25% din infecțiile nosocomiale, iar rapoartele privind MRSA dobândit comunitar sunt în creștere, ducând la morbiditate și mortalitate semnificative. Au fost raportate mortalități de 33% și 16% imputabile MRSA și, respectiv, bacteremiilor *S. aureus* (SA) sensibile la meticilină. Există, de asemenea, îngrijorări cu privire la creșterea costurilor cu infecțiile cu MRSA. În încercările de a limita răspândirea acestor infecții, sunt elaborate și puse în aplicare strategii și politici de control în cadrul centrelor medicale. Controlul MRSA este un obiectiv principal al majorității programelor de control al infecțiilor spitalicești. În prezent, metoda standard pentru detectarea MRSA și SA este cultura, care este foarte laborioasă și poate necesita câteva zile pentru a genera un rezultat definitiv.^{2,3,4,5,6,7}

5 Principiul procedurii

Sistemul GeneXpert purificarea probei, amplificarea acidului nucleic și detectarea secvenței țintă în probe simple sau complexe utilizând teste PCR în timp real. dintr-un instrument, un computer personal și software preîncărcat pentru execuția testelor și vizualizarea rezultatelor. utilizarea de cartușe de unică folosință care conțin reactivi PCR și găzduiesc procesele PCR. Deoarece cartușele sunt autonome, contaminarea încrucișată între probe este minimizată. Pentru o descriere completă a , consultați *Manualul de utilizare a sistemului GeneXpert Dx* sau *Manualul de utilizare a sistemului GeneXpert Infinity corespunzător*.

Testul Xpert MRSA/SA SSTI include reactivi pentru detectarea MRSA și SA, precum și un control de procesare a probelor (SPC) pentru a controla procesarea adecvată a bacteriilor țintă și pentru a monitoriza prezența inhibitorului (inhibitorilor) în reacția PCR. SPC se asigură, de asemenea, că condițiile de reacție PCR (temperatura și timpul) sunt adecvate pentru reacția de amplificare și că reactivii PCR sunt funcționali. Controlul verificării sondei (PCC) verifică rehidratarea reactivului, umplerea eprubetei PCR în cartuș, integritatea sondei și stabilitatea colorantului.

Amorsele și sondele din testul Xpert MRSA/SA SSTI detectează secvențe patentate pentru proteina stafilococică A (*spa*), gena pentru rezistența la meticilină (*mecA*) și cromozomul casetei stafilococice (*SCCmec*) inserat în situsul cromozomial *attB SA*.

6 Reactivi și instrumente

6.1 Materiale furnizate

Trusa Xpert MRSA/SA SSTI conține reactivi suficienți pentru procesarea a 10 specimene sau probe de control al calității. Trusa conține următoarele:

Cartușe Xpert MRSA/SA SSTI cu eprubete de reacție integrate	10
<ul style="list-style-type: none"> Picătura 1, Picătura 2 și Picătura 3 (liofilizate) 	1 per cartuș
<ul style="list-style-type: none"> Reactiv 1 	3,0 ml per cartuș
<ul style="list-style-type: none"> Reactiv 2 (hidroxid de sodiu) 	3,0 ml per cartuș
Pungă cu reactiv de eluție Xpert MRSA/SA SSTI	10 x 2,0 ml per pungă
<ul style="list-style-type: none"> Reactiv de eluție (tiocianat de guanidiniu) 	
CD	1 per trusă
<ul style="list-style-type: none"> Fișier de definiție a analizei (ADF) Instrucțiuni de importare a ADF în software-ul GX Instrucțiuni de utilizare (Prospect) 	

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

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

6.2 Depozitare și manipulare

- Depozitați cartușele Xpert MRSA/SA SSTI și reactivii la 2–28 °C.
- Nu utilizați reactivi sau cartușe care au depășit data de expirare.
- Nu deschideți cartușul până când nu sunteți gata să efectuați testarea.
- Nu utilizați reactivii care au devenit tulburi sau s-au decolorat.

7 Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

- Sistemul Instrumentului GeneXpert (numărul de catalog variază în funcție de configurație): Instrument GeneXpert, computer cu software-ul patentat GeneXpert versiunea 4.3 sau superioară, cititor de tip baghetă pentru coduri de bare și manualul de utilizare.
- Imprimantă: Dacă este necesară o imprimantă, contactați Asistența tehnică Cepheid pentru a lua măsuri pentru achiziționarea unei imprimante recomandate.
- Dispozitiv de colectare a probelor Cepheid (900-0370) sau echivalent Copan
- Mixer centrifugațional
- Pipete de transfer de unică folosință
- Tifon steril


8 Materiale disponibile, dar care nu sunt furnizate

KWIK-STIKs™ de la Microbiologics, nr. catalog 0158MRSA și nr. catalog 0360SA ca și controale pozitive externe și nr. 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* sensibil la meticilină) ca și control negativ extern.

9 Avertizări și măsuri de precauție

- Tratați toate probele biologice, inclusiv cartușele utilizate și reactivii utilizați, ca și cum ar putea să transmită agenți infecțioși. Deoarece este adesea imposibil să se știe care ar putea fi infecțioase, toate speciile biologice trebuie tratate cu măsuri de precauție standard. Îndrumările pentru manipularea probelor sunt disponibile de la Centrele SUA pentru Controlul și Prevenirea Bolilor⁸ și de la Institutul de Standarde Clinice și de Laborator (CLSI).⁹
- Într-o cultură mixtă care conține MRSA/SA și alte organisme (de exemplu, bacili Gram negativi, levuri), rezultatele pot fi fals negative sau variabile în funcție de concentrația de MRSA/SA prezentă, în special dacă concentrația de MRSA/SA este apropiată de LoD a testului.
- Urmați procedurile de siguranță ale instituției dumneavoastră pentru lucrul cu substanțe chimice și pentru manipularea probelor biologice.
- Testul Xpert MRSA/SA SSTI poate detecta ADN-ul MRSA și/sau SA de la organisme neviabile. Probabilitatea ca acest lucru să se întâmple crește la pacienții care urmează tratament cu antibiotice.
- Testul Xpert MRSA/SA SSTI nu oferă rezultate ale testelor de sensibilitate antimicrobiană. Este necesar un timp suplimentar pentru cultivare și efectuarea testelor de susceptibilitate.
- Nu înlocuiți reactivii testului Xpert MRSA/SA SSTI cu alți reactivi.
- Nu deschideți capacul cartușului testului Xpert MRSA/SA SSTI, cu excepția cazului în care adăugați probă și reactiv sau efectuați o nouă testare.
- Nu utilizați un cartuș care a fost scăpat sau scuturat după ce ați adăugat proba și reactivul.
- Nu utilizați un cartuș care are o eprubetă de reacție deteriorată.
- Fiecare cartuș de unică folosință al testului Xpert MRSA/SA SSTI este utilizat pentru a procesa un test. Nu reutilizați cartușele utilizate.
- Speciile biologice, dispozitivele de transfer și cartușele utilizate trebuie să fie considerate că pot să transmită agenți infecțioși care necesită măsuri de precauție standard. Urmați procedurile instituției dumneavoastră privind eliminarea la deșeurile pentru eliminarea corespunzătoare a cartușelor utilizate și a reactivilor neutilizați. Aceste materiale pot prezenta caracteristici specifice deșeurilor chimice periculoase care necesită proceduri de eliminare naționale sau regionale specifice. În cazul în care reglementările naționale sau regionale nu oferă instrucțiuni clare privind eliminarea corespunzătoare, probele biologice și cartușele utilizate trebuie eliminate la deșeurile conform îndrumărilor OMS [Organizația Mondială a Sănătății] privind manipularea deșeurilor medicale.
- Nu deschideți capacul cartușului până când nu sunteți gata să efectuați testarea.

10 Pericole chimice^{17,18}

- Pictograma de pericol ONU GHS: 
- Cuvânt de semnal: AVERTIZARE
- Declarații de pericol ONU GHS

- Nociv în caz de înghițire
- Provoacă iritarea pielii
- Provoacă o iritare gravă a ochilor
- **Declarații de precauție ONU GHS**
 - **Măsuri de prevenire**
 - Spălați-vă bine după utilizare.
 - A nu mânca, bea sau fuma în timpul utilizării produsului.
 - Evitați dispersarea în mediu.
 - Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței
 - **Răspuns**
 - ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: Spălați cu multă apă și săpun.
 - Scoateți îmbrăcăminte contaminată și spălați-o înainte de reutilizare.
 - Tratament specific, consultați informațiile privind măsurile suplimentare de prim ajutor.
 - În caz de iritare a pielii: Consultați medicul/solicitați asistență medicală.
 - ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă există și dacă sunt ușor de scos. Continuați să clătiți.
 - Dacă iritarea ochilor persistă: Consultați medicul/solicitați asistență medicală
 - ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic, dacă nu vă simțiți bine.
 - Clătiți gura.
 - **Depozitare/Eliminare**
 - Eliminați conținutul și/sau recipientul în conformitate cu reglementările locale, regionale, naționale și/sau internaționale.

11 Colectarea, transportul și depozitarea probelor

Probele de tampon de infecții ale pielii și ale țesuturilor moi pot fi prelevate cu dispozitivul de colectare a probelor Cepheid, urmând procedurile standard ale instituției utilizatorului. Tamponele de probă sunt introduse înapoi în eprubeta de transport din plastic (mediu lichid Stuarts, dispozitivul de colectare a probelor Cepheid sau Copan recomandat), depozitate la temperatura camerei și trimise în zona de testare GeneXpert pentru procesare în ziua următoare. Tamponul netestat rămas pentru cultură microbiologică trebuie introdus în sisteme de transport adecvate și cultivat în decurs de 4 zile. Dacă nu este expediată până a doua zi, proba trebuie transportată pe gheață. Alternativ, tamponele pot fi depozitate la 2-8 °C pentru testare până la 5 zile.

12 Cultură microbiologică

Pentru metodele de cultivare SSTI, urmați procedurile de operare standard curente ale laboratorului. Pentru cultivare, probele de tampon rămase netestate trebuie introduse în sisteme de transport adecvate și cultivate în decurs de 4 zile.

13 Procedură

13.1 Pregătirea cartușului

Important Începeți testul în decurs de 15 minute de la adăugarea reactivilor la cartuș.

Pentru adăugarea probei și a reactivului de eluție în cartuș:

1. Scoateți cartușul și reactivul de eluție din ambalaj.
2. Scoateți tamponul din recipientul pentru transport.

Notă Utilizați tifon steril pentru a manipula tamponul în vederea minimizării riscului de contaminare.

3. Introduceți tamponul în eprubeta care conține reactivul de eluție și rupeți tamponul.
4. Închideți capacul flaconului cu reactiv de eluție și centrifugați la viteză mare timp de 10 secunde.
5. Deschideți capacul cartușului. Utilizând o pipetă de transfer sterilă, transferați integral conținutul flaconului cu reactiv de eluție în compartimentul pentru probă al cartușului Xpert MRSA/SA SSTI.
6. Închideți capacul cartușului.



Figura 1. Cartușul Xpert MRSA/SA SSTI (vedere de sus)

13.2 Începerea testului

Important

Înainte de a începe testul, asigurați-vă că fișierul de definiție a analizei Xpert MRSA/SA SSTI este importat în software.

Această secțiune listează pașii implicați pentru a utiliza sistemul instrumentului GeneXpert. Pentru instrucțiuni detaliate, consultați *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Dx* sau *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Infinity*.

1. Porniți sistemul instrumentului GeneXpert :

Notă Pașii de urmat pot fi diferiți în cazul în care administratorul sistemului a modificat fluxul de lucru implicit al sistemului.

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

Notă Dacă codul de bare de pe cartușul Xpert MRSA /SA SSTI nu se scanează, repetați testul cu un cartuș nou.

7. Faceți clic pe **Începere test (Start Test)**. (GeneXpert Dx) sau **Trimitere (Submit)** (Infinity). Tastați parola în caseta de dialog care se afișează.

8. Pentru sistemul GeneXpert Infinity, așezați cartușul pe banda transportoare. Cartușul va fi încărcat automat, testul va fi executat și cartușul utilizat va fi introdus în recipientul pentru deșeuri.

sau

Pentru instrumentul GeneXpert Dx:

- a. Deschideți ușa modulului instrumentului cu indicatorul luminos verde care luminează intermitent și încărcați cartușul.
- b. Închideți ușa. Testul începe și indicatorul luminos verde încetează să lumineze intermitent. Atunci când testul este finalizat, indicatorul luminos se stinge.
- c. Așteptați până când sistemul eliberează dispozitivul de blocare a ușii înainte de a deschide ușa modulului și de a îndepărta cartușul.
- d. Cartușele utilizate trebuie eliminate în recipientul corespunzător pentru deșeuri de.

14 Vizualizarea și tipărirea rezultatelor

Pentru instrucțiuni mai detaliate privind modul de vizualizare și de tipărire a rezultatelor, consultați *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Dx* sau *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Infinity*.

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

15 Controlul calității

15.1 Controale ale calității încorporate

Fiecare test include un control al procesării probei (SPC sau BG3 în ecranul de vizualizare a rezultatului pentru utilizatorul de nivel administrativ) și un control al verificării probei (PCC).

- **Controlul procesării probei (SPC)** - Asigură că proba a fost procesată corect. SPC conține spori de *Bacillus globigii* sub forma unei turte uscate de spori care este inclusă în fiecare cartuș pentru a verifica procesarea adecvată a probei pentru testul Xpert MRSA/SA SSTI. SPC verifică dacă liza *Staphylococcus aureus* a avut loc dacă organismele sunt prezente și verifică dacă procesarea probei este adecvată. În plus, acest control detectează inhibarea asociată probei a testului PCR în timp real, asigură adecvarea condițiilor de reacție PCR (temperatura și timpul) pentru reacția de amplificare și că reactivii PCR sunt funcționali. SPC trebuie să fie pozitiv într-o probă negativă și poate fi negativ sau pozitiv într-o probă pozitivă. SPC reușește dacă îndeplinește criteriile de acceptare validate.
- **Controlul de verificare a sondei (PCC)** - Înainte de începerea reacției PCR, sistemul GeneXpert măsoară semnalul de fluorescență de la sonde pentru a monitoriza rehidratarea picăturii, umplerea eprubetei de reacție, integritatea sondei și stabilitatea colorantului. Verificarea sondei este aprobată dacă satisface criteriile de acceptare alocate.

15.2 Controale externe

KWIK-STIKs (Microbiologics, nr. catalog 0158MRSA [SCC*mec* tip II] și nr. catalog 0360SA ca și controale pozitive și nr. 0371MSSE ca și control negativ) pot fi utilizate pentru instruirea, testarea performanței și controlul calității extern ale sistemului GeneXpert. Tulpinile de MRSA care reprezintă alte tipuri de SCC*mec*, dacă sunt disponibile, pot fi utilizate ca și controale pozitive externe suplimentare pentru a monitoriza amorsele de testare și sondele care nu sunt controlate direct în cadrul testului. Pot fi utilizate controale externe în conformitate cu reglementările instituțiilor de acreditare și guvernamentale, după caz. Urmați procedura de control extern Microbiologics descrisă mai jos:

1. Deschideți prin rupere punga la creștătură și scoateți KWIK-STIK.
2. Prindeți partea de jos a ampulei în capac pentru a elibera fluidul de hidratare.
3. Țineți în poziție verticală și loviți ușor pentru a facilita fluxul de fluid prin tijă în partea de jos a unității care conține peleta.
4. Pentru a facilita dizolvarea peletei celulare liofilizate, zdrobiți peleta și prindeți ușor camera inferioară.
5. Desfaceți KWIK-STIK pentru a elibera tamponul și introduceți tamponul în eprubeta care conține reactivul de eluție (dop filetat).
6. Tamponul KWIK-STIK este acum gata pentru testarea cu Xpert MRSA/SA SSTI.

7. În cazul în care controlul extern al calității nu reușește conform așteptărilor, repetați testul de control extern și/sau contactați Cepheid pentru asistență.

Exemple de rezultate ale testului Xpert MRSA/SA SSTI sunt prezentate în Figura 2 până la Figura 5.

16 Interpretarea rezultatelor

Rezultatele sunt interpolate de sistemul GeneXpert din semnale fluorescente măsurate și algoritmi de calcul încorporați și vor fi afișate în fereastra **Vizualizare rezultate** (View Results). Rezultatele posibile sunt:

Tabelul 1. Rezultate și interpretare MRSA/SA SSTI

Rezultat	Interpretare
MRSA POZITIV/SA POZITIV (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE) Figura 2	<p>Testul Xpert MRSA/SA SSTI poate detecta ADN-ul MRSA și/sau SA de la organisme neviabile.</p> <p>Se detectează secvențe de ADN țintă ale MRSA / Se detectează secvența ADN țintă a SA.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA POZITIV (MRSA POSITIVE) – toate țintele MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> și <i>SCCmec</i>) au un prag de ciclu (Ct) în intervalul valid și punctul final peste setarea minimă. SPC – NA (nu este cazul) (NA (not applicable)); SPC este ignorat deoarece amplificarea MRSA poate concura cu acest control. Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
MRSA NEGATIV/SA POZITIV (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) Figura 3	<p>Testul Xpert MRSA/SA SSTI poate detecta ADN-ul MRSA și/sau SA de la organisme neviabile.</p> <ul style="list-style-type: none"> Nu se detectează secvențe de ADN țintă ale MRSA / Se detectează secvența ADN țintă a SA. SA POZITIV (SA POSITIVE) — ținta SA (<i>spa</i>) are un Ct în intervalul valid și punctul final peste setarea minimă. ADN-ul țintă pentru <i>SCCmec</i> nu este detectat, ADN-ul țintă pentru <i>mecA</i> poate sau nu poate fi detectat sau ADN-ul țintă pentru <i>SCCmec</i> este detectat și ADN-ul țintă pentru <i>mecA</i> nu este detectat („casetă goală”). SPC – NA (nu este cazul) (NA (not applicable)); SPC este ignorat deoarece amplificarea SA poate concura cu acest control. Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit. <p>Un rezultat pozitiv al testului nu indică neapărat prezența unor organisme viabile. Cu toate acestea, este prezumtiv pentru prezența MRSA sau SA.</p>
MRSA NEGATIV/SA NEGATIV (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) Figura 4	<p>Nu se detectează secvența de ADN țintă a <i>Staphylococcus aureus</i>. SPC îndeplinește criteriile de acceptare.</p> <ul style="list-style-type: none"> NEGATIV (NEGATIVE) – Nu se detectează ADN-ul țintă al <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>spa</i>). ADN-ul țintă pentru <i>mecA</i> poate sau nu poate fi detectat sau ADN-ul țintă pentru <i>SCCmec</i> poate sau nu poate fi detectat. SPC – REUȘITĂ (PASS); SPC are un Ct în intervalul valid și punctul final peste setarea minimă. Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit. <p>Un rezultat fals negativ pentru MRSA [un rezultat „MRSA NEGATIV; SA POZITIV” („MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE”) în loc de „MRSA POZITIV; SA POZITIV” („MRSA POSITIVE; SA POSITIVE”)] ar putea fi obținut dacă atât MRSA cât și SA sunt prezenți în probă într-un raport MRSA:SA de 1:1x10⁶ sau mai mare.</p> <p>În studiile clinice, 5 din cele 246 de culturi pozitive pentru MRSA au avut infecții mixte cu MRSA și SA. Xpert MRSA/SA SSTI a identificat 3 din cele 5 infecții mixte ca fiind pozitive pentru MRSA și 2 din 5 ca fiind pozitive pentru SA/negative pentru MRSA.</p>

Rezultat	Interpretare
NEVALID (INVALID) Figura 5	<p>Prezența sau absența secvențelor de ADN țintă ale MRSA/SA nu poate fi determinată, repetați testul conform instrucțiunilor din secțiunea de mai jos. SPC nu îndeplinește criteriile de acceptare, proba nu a fost procesată corespunzător sau PCR a fost inhibată.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NEVALID (INVALID) – Prezența sau absența ADN-ului de <i>Staphylococcus aureus</i> nu poate fi determinată. • SPC - NEREUȘITĂ (FAIL) – rezultatul țintă al SPC este negativ, iar valoarea Ct a SPC nu se află în intervalul valid și punctul final este sub setarea minimă. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
EROARE (ERROR)	<p>Prezența sau absența secvențelor de ADN țintă ale MRSA/SA nu poate fi determinată, repetați testul conform instrucțiunilor din secțiunea de mai jos. Controlul verificării sondei a eșuat, probabil ca urmare a unei eprubete de reacție umplute necorespunzător, a unei probleme de integritate a sondei sau a depășirii limitelor maxime de presiune.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) • SA – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) • SPC – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) • Verificarea sondei – NEREUȘITĂ (FAIL)*; toate sau mai multe dintre rezultatele verificării sondei au eșuat. <p>* Dacă verificarea sondei a reușit, eroarea este cauzată de o defecțiune a unei componente a sistemului.</p>
FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	<p>Prezența sau absența secvențelor de ADN țintă ale MRSA/SA nu poate fi determinată, repetați testul conform instrucțiunilor din secțiunea de mai jos. Au fost colectate date insuficiente pentru a genera un rezultat al testului. De exemplu, acest lucru se poate întâmpla dacă operatorul a oprit un test care era în desfășurare.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) • SA – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) • SPC – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) • Verificarea sondei – NA (nu este cazul) (NA (not applicable))

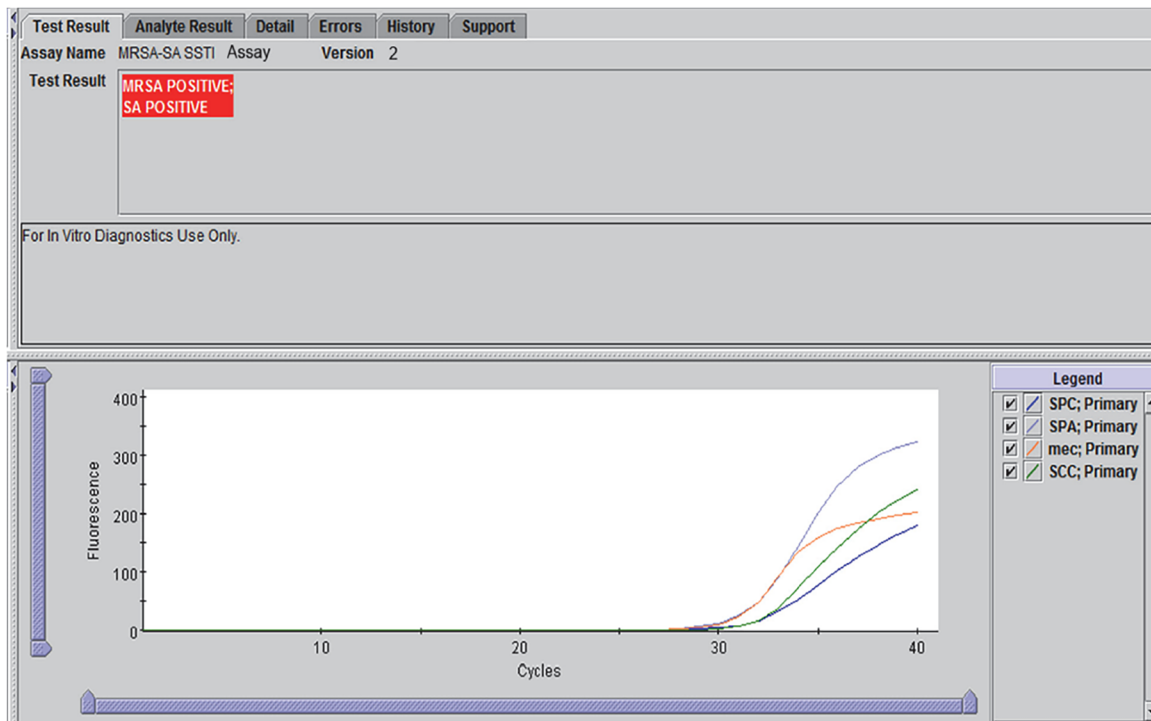


Figura 2. Un exemplu de rezultat MRSA pozitiv/SA pozitiv

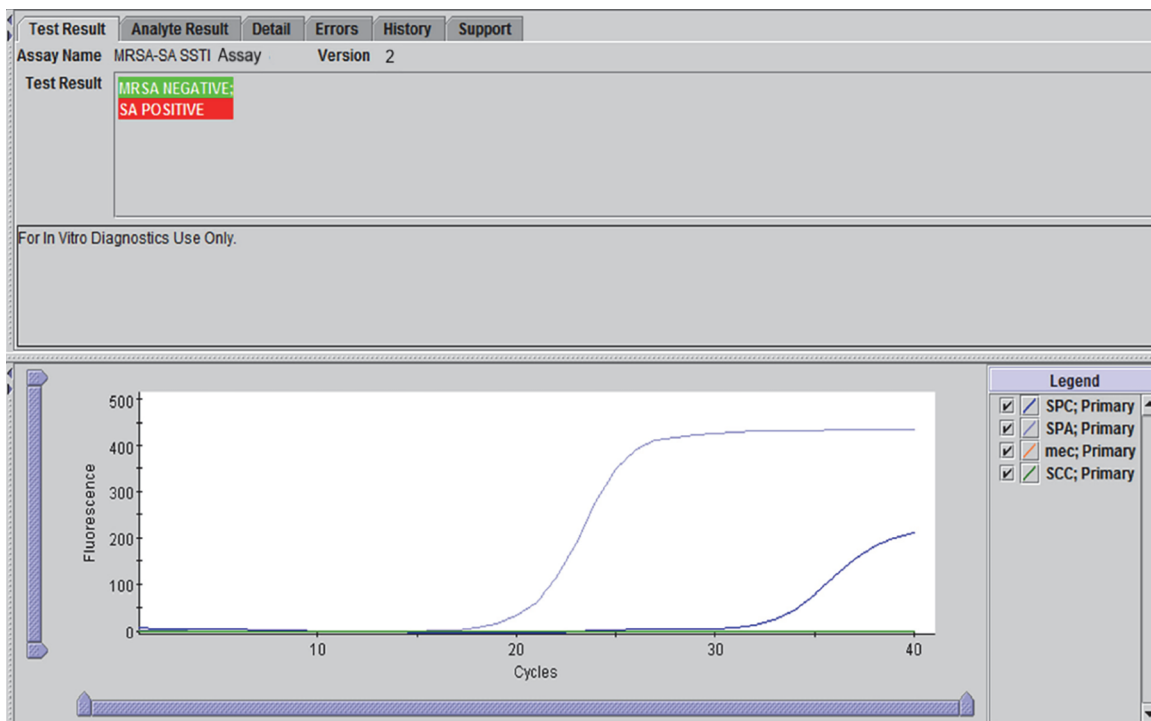


Figura 3. Un exemplu de rezultat MRSA negativ/SA pozitiv

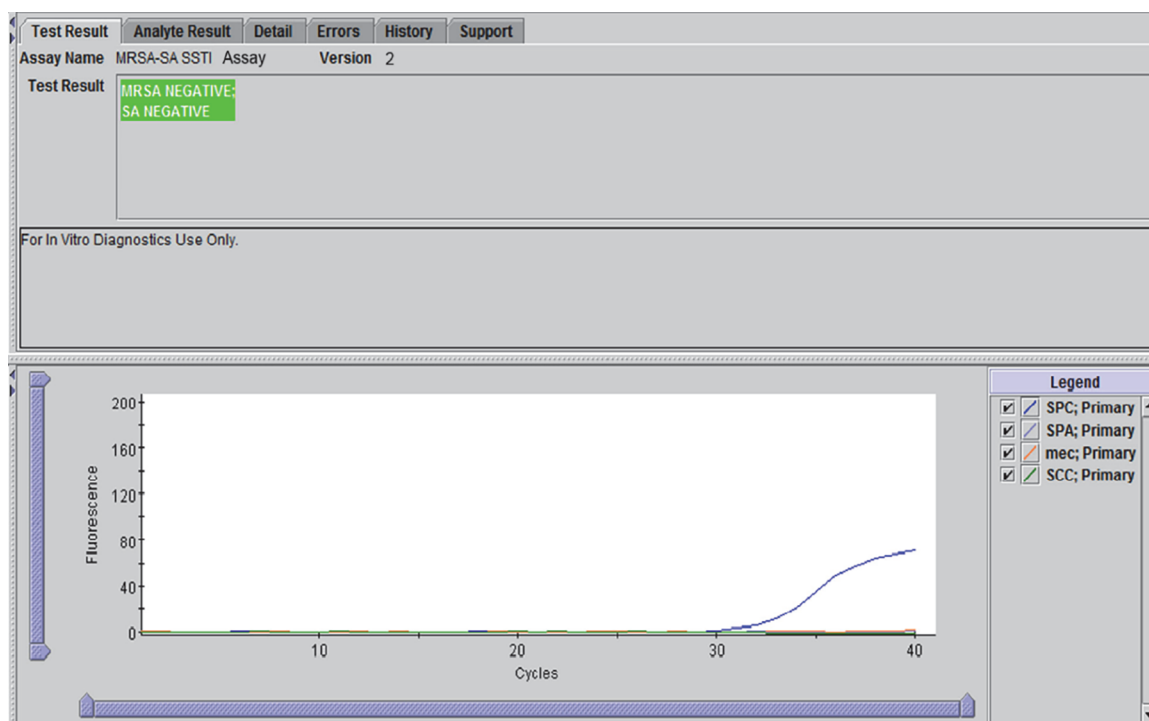


Figura 4. Un exemplu de rezultat MRSA negativ/SA negativ

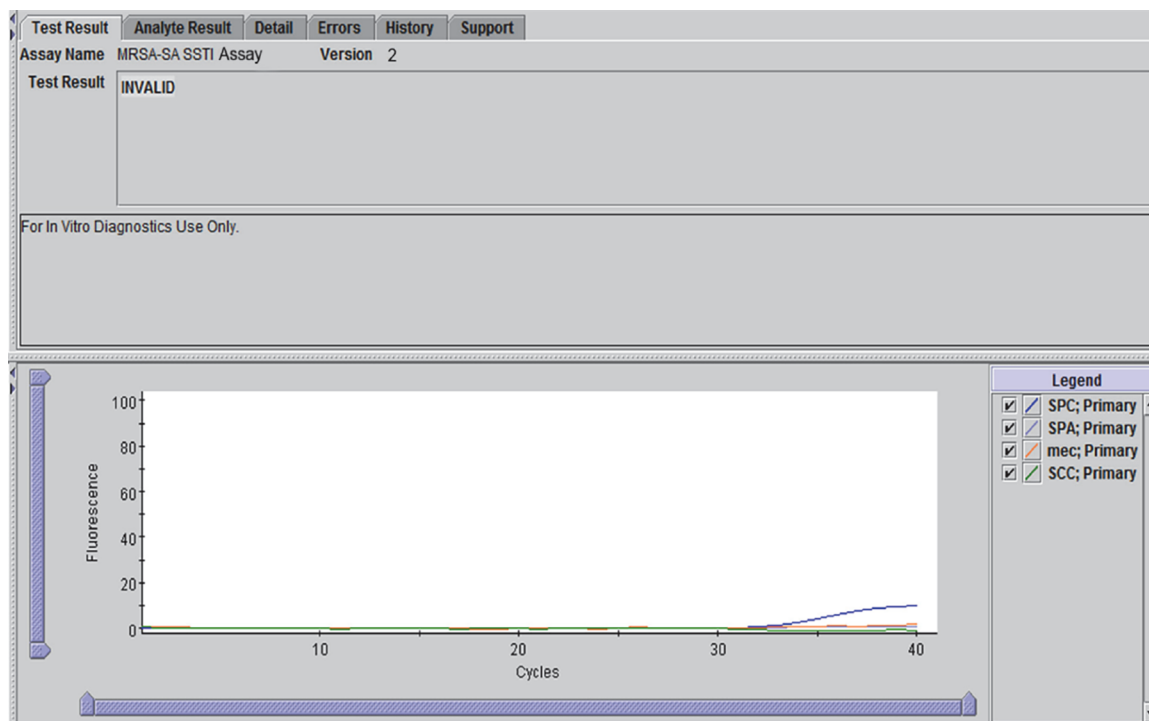


Figura 5. Un exemplu de rezultat nevalid

17 Motive pentru repetarea analizei

17.1 Motive pentru repetarea testului

Repeți testul folosind un cartuș nou (nu reutilizați cartușul) și reactivi noi. Efectuați procedura de retestare în decurs de 3 ore de la obținerea unui rezultat nedeterminat.

- Un rezultat [NEVALID (INVALID)] **NEVALID (INVALID)** indică faptul că SPC a eșuat. Proba nu a fost procesată corespunzător sau PCR a fost inhibată.
- Un rezultat [NEVALID (INVALID)] **EROARE (ERROR)** Un rezultat [EROARE (ERROR)] indică faptul că controlul de verificare a sondei a eșuat, iar testul a fost anulat, posibil din cauza unei eprubete de reacție umplută incorect, s-a detectat o problemă de integritate a sondei cu reactiv sau au fost depășite limitele de presiune maxime.
- Un **FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)** mesaj [FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)] indică faptul că au fost colectate date insuficiente. De exemplu, operatorul a oprit un test care era în desfășurare.
- În cazul în care un control extern al calității nu reușește conform așteptărilor, repeți testul de control extern și/sau contactați Cepheid pentru asistență.

17.2 Procedura de retestare

Repeți testul folosind un cartuș nou (nu reutilizați cartușul) și un flacon cu reactiv de eluție nou.

Pentru a efectua o retestare, dacă retestați în decurs de 3 ore de la obținerea unui rezultat nedeterminat*:

1. Transferați conținutul rămas din compartimentul pentru probă într-un flacon cu reactiv de eluție nou folosind o pipetă de transfer de unică folosință.
2. Centrifugați și adăugați întregul conținut al flaconului cu reactiv de eluție în compartimentul pentru probă al cartușului testului MRSA/SA SSTI.
3. Închideți capacul și începeți un nou test.

* Dacă retestarea nu poate fi efectuată în decurs de 3 ore, utilizați o probă nouă.

18 Limitări

- Performanța testului Xpert MRSA/SA SSTI a fost validată utilizând numai procedurile furnizate în acest prospect. Modificările aduse acestor proceduri pot altera performanța testului. Rezultatele testului Xpert MRSA/SA SSTI trebuie interpretate împreună cu alte date de laborator și clinice disponibile clinicianului.
- Testul Xpert MRSA/SA SSTI poate detecta ADN-ul MRSA și/sau SA de la organisme neviabile. Probabilitatea ca acest lucru să se întâmple crește la pacienții care urmează tratament cu antibiotice. În studiul clinic pivot, rata fals pozitivă (în raport cu cultura) de detectare a SA la pacienții care utilizează antibiotice, în decurs de 3 săptămâni înainte de testarea Xpert MRSA/SA, a fost de 13,8%. Rata fals pozitivă (în raport cu cultura) de detectare a MRSA la pacienții care utilizează antibiotice, în decurs de 3 săptămâni înainte de testarea Xpert MRSA/SA, a fost de 9,5%.
- Un rezultat pozitiv al testului nu indică neapărat prezența unor organisme viabile. Cu toate acestea, este prezumtiv pentru prezența MRSA sau SA.
- Testarea cu testul Xpert MRSA/SA SSTI ar trebui utilizată ca adjuvant al altor metode disponibile.
- Pot apărea rezultate eronate ale testului ca urmare a colectării incorecte a specimenelor; a nerespectării procedurilor recomandate pentru colectarea, manipularea și depozitarea probelor; a unei erori tehnice; a amestecării probelor; sau din cauză că numărul organismelor din specimen este prea mic pentru a fi detectat de test. Este necesară respectarea cu atenție a instrucțiunilor din acest prospect pentru a evita rezultatele eronate.
- Deoarece detectarea MRSA și SA depinde de numărul de organisme prezente în probă, rezultatele fiabile depind de colectarea, manipularea și depozitarea corespunzătoare a probelor.
- Mutații sau polimorfisme în regiunile de legare ale amorsei sau probei pot afecta detectarea variantelor de MRSA noi sau necunoscute, ducând la un rezultat fals negativ.
- În probele care conțin atât MRSA cât și SA, testul Xpert MRSA/SA SSTI poate să nu detecteze organismele SA rezistente la metilicilină. (În studiul clinic pivot, testul Xpert MRSA/SA SSTI nu a reușit să detecteze 2 din 5 probe pozitive de cultură MRSA în situații cu infecții mixte cu MRSA/SA documentate.)
- Într-o cultură mixtă, LoD analitică a MRSA este variabilă atunci când sunt prezente concentrații extrem de mari de SA. Concurența din partea SA a fost observată la un raport MRSA:SA de 1:1x10⁶. În studiile clinice, 5 din cele 246 de culturi pozitive pentru MRSA au avut infecții mixte cu MRSA și SA. Xpert MRSA/SA SSTI a identificat 3 din cele 5 infecții mixte ca fiind pozitive pentru MRSA și 2 din 5 ca fiind pozitive pentru SA/negative pentru MRSA.

- Inhibarea testului MRSA/SA SSTI a fost observată cu următoarele substanțe: StaphA +Septic (5% g/v), hidrocortizon (5% g/v) și dezinfectant antibacterian pentru mâini (5% g/v).
- Probele care conțin mercurcrom nu pot fi utilizate din cauza naturii sale fluorescente.
- Testul Xpert MRSA/SA SSTI va genera un rezultat MRSA fals pozitiv atunci când se testează o probă SSTI cu infecție mixtă care conține atât *Staphylococcus* coagulazo-negativ rezistent la meticilină (MRCNS), cât și *Staphylococcus aureus* sensibil la meticilină cu casetă goală (SA).
- Din cauza factorului de diluare asociat cu procedura de retestare, este posibil ca probele pozitive pentru MRSA sau SA foarte aproape sau la limita de detecție (LoD) a testului Xpert MRSA/SA SSTI să ducă la un rezultat fals negativ la retestare.

19 Studiu privind substanțele interferente

În studiul de investigație pentru testul Xpert MRSA/SA SSTI, s-a observat că 428 din cele 848 de probe conțin sânge și 404 conțin alte substanțe nespecifice, care ar putea interfera cu testul (rețineți că unele probe conțin mai mult de un tip de potențial contaminant). Testele exacte de la Fisher efectuate pe datele generate de tamponi cu și fără aceste substanțe potențial interferente au demonstrat că prezența lor nu a afectat performanța testului.

Într-un studiu non-clinic, substanțele potențial interferente care pot fi prezente în probele clinice de infecții ale pielii și ale țesuturilor moi au fost evaluate direct în raport cu performanța testului Xpert MRSA/SA SSTI. Substanțele potențial interferente din infecțiile pielii și ale țesuturilor moi pot include, dar nu se limitează la: sânge, puroi, plasmă, unguente topice (antibiotic/antiseptic/calmant al durerii), agenți de debridare și tincturi. Aceste substanțe sunt enumerate în Tabelul 2 și Tabelul 3, fiind prezentate ingredientele active și concentrațiile testate. Inhibarea testului MRSA/SA SSTI a fost observată cu următoarele substanțe: Antiseptic stafilococic (5% g/v), hidrocortizon (5% g/v) și dezinfectant antibacterian pentru mâini (5% g/v).

Probele care conțin mercurcrom nu pot fi utilizate din cauza naturii sale fluorescente.

Tabelul 2. Substanțe potențiale interferente SSTI testate

Substanță	Ingredient activ	% testat
Soluție tampon TET	Control	Control
Strat leuco-trombocitar (surogat pentru plagă)	WBC (1,5e9/ml)	50% (v/v)
Sânge integral (fără MRSA/SA)	Nu este cazul	50% (v/v)
Plasmă	Nu este cazul	50% (v/v)
Neosporină	400 de unități bacitracină 5.000 de unități polimixină B 3,5 mg neomicină	1% și 5% (g/v)
Antiseptic stafilococic	0,2% clorură de benzetoniu, 2,5% lidocaină HCl	1% și 5% (g/v)
Hidrocortizon	1% hidrocortizon	1% și 5% (g/v)
Boil-Ease	20% benzocaină	1% și 5% (g/v)
Tinctura de iod	2% iod	50% (v/v)

Tabelul 3. Substanțe potențiale interferente SSTI testate

Substanță	Ingredient activ	% testat
Soluție tampon TET (Control)	Control	Control
Mupirocină	0,2% clorură de benzetoniu, 2,5% lidocaină HCl	5% (g/v)
Sânge integral (fără MRSA/SA)	Nu este cazul	50% (v/v)

Substanță	Ingredient activ	% testat
Soluție salină	0,65% clorură de sodiu	50% (v/v)
Dezinfectant antibacterian pentru mâini	62% alcool etilic	1% și 5% (g/v)
70% alcool izopropilic	70% alcool izopropilic	50% (v/v)

20 Valori preconizate

În studiul clinic Xpert MRSA/SA SSTI, au fost incluse în total 848 de probe SSTI din patru spitale mari din Statele Unite. Numărul și procentul de cazuri pozitive prin metoda culturii de referință, calculate pe grupe de vârstă, sunt prezentate în Tabelul 4.

Tabelul 4. Prevalența observată a MRSA și SA în funcție de cultură

Grupă de vârstă	N total	MRSA în funcție de cultură		SA în funcție de cultură	
		Număr pozitiv	Prevalența observată	Număr pozitiv	Prevalența observată
Vârste sub 3 ani	34	11	32,4%	21	61,8%
Vârste cuprinse între 3 și 18 ani	100	25	25,0%	55	55,0%
Vârste cuprinse între 19 și 65 de ani	614	188	30,6%	300	48,9%
Vârstă de 66 de ani și peste	100	22	22,0%	35	35,0%

21 Caracteristici de performanță

21.1 Performanță clinică

Caracteristicile de performanță ale testului Xpert MRSA/SA SSTI au fost determinate într-un studiu de investigație prospectivă desfășurat în mai multe centre la patru instituții din SUA prin compararea testului Xpert MRSA/SA SSTI cu cultura de referință. Subiecții au inclus indivizi a căror îngrijire de rutină a necesitat colectarea unui tampon din infecția pielii și a țesuturilor moi ale pacientului pentru cultură.

Au fost colectate câte două tampoane de la fiecare subiect. Un tampon a fost testat cu testul Xpert MRSA/SA SSTI la centrul de înscriere și celălalt tampon a fost testat prin metoda standard a centrului, iar proba rămasă a fost trimisă la laboratorul central pentru testarea culturii de referință.

La laboratorul centralizat, proba a fost îmbogățită peste noapte în bulion de soia tripticază cu 6,5% NaCl. Bulionul de soia tripticază a fost apoi însămânțat cu ansa pe plăci cu cefoxitină (pentru MRSA) și fără cefoxitină (pentru SA). Dacă una sau ambele plăci SA sau MRSA au prezentat colonii prezumtive de *S. aureus*, coloniile au fost subcultivate pe o placă de agar de sânge. Confirmarea coloniilor pozitive prezumtive a fost efectuată cu catalază, coagulază tubulară și colorare Gram. Rezistența la oxacilină mediată de *MecA* a fost testată prin testul de difuzie a discului folosind un disc de 30 μg cefoxitină și o valoare de referință de 21/22 mm. Dacă s-a determinat că, atât pentru plăcile SA cât și pentru plăcile MRSA, culturile sunt negative, bulionul de soia tripticază arhivat cu 6,5% NaCl a fost subcultivat pe agar de sânge urmat de prelucrare pentru SA/ MRSA așa cum s-a descris anterior.

Performanța testului Xpert MRSA/SA SSTI a fost calculată în raport cu rezultatele culturii de referință.

21.2 Rezultate generale

În total au fost testate 848 de probe pentru MRSA și SA cu testul Xpert MRSA/SA SSTI și în funcție de cultură.

Dintre cele 848 de cazuri din setul de date eligibile, utilizarea antibioticelor în decurs de 3 săptămâni înainte de colectarea probelor a fost raportată pentru 207 subiecți și nu s-a confirmat utilizarea antibioticelor pentru 441 de subiecți; pentru 200 de cazuri, starea utilizării antibioticelor nu a fost cunoscută. O scădere semnificativă din punct de vedere statistic a ratei de pozitivitate a SA în ceea ce privește rezultatele culturii a fost observată atunci când au fost utilizate antibiotice ($p=0,007$); acest fenomen a fost raportat și în literatura de specialitate.^{10, 11, 12, 13, 14} Rata de pozitivitate MRSA pentru cultură a fost, de asemenea, scăzută, deși într-o mai mică măsură ($p=0,022$). Scăderea pozitivității nu a fost observată cu testul Xpert MRSA/SA SSTI atunci când au fost utilizate antibiotice și nicio inhibiție nu a fost observată în cadrul testului în prezența antibioticelor topice (a se vedea Secțiunea 20 Substanțe interferente). Scăderea ratelor de pozitivitate ale culturii pentru MRSA și SA în prezența antibioticelor a determinat ratele fals pozitive mai mari decât se aștepta observate cu testul Xpert MRSA/SA SSTI.

Cinci din cele 246 de culturi pozitive pentru MRSA au prezentat infecții mixte cu MRSA și SA. Xpert MRSA/SA SSTI a identificat 3 din cele 5 infecții mixte ca fiind pozitive pentru MRSA și 2 din 5 ca fiind pozitive pentru SA/negative pentru MRSA.

Performanța testului Xpert MRSA/SA SSTI este rezumată în Tabelul 5 până la Tabelul 7.

Tabelul 5. Performanța MRSA/SA la subiecți care nu utilizează antibiotice (în decurs de 3 săptămâni înainte de colectarea probelor) vs. cultura de referință

	Cultură			Total
	MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Nicio creștere	
MRSA+	137 ^a	2	6	145
SA+/MRSA-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Total	146	85	210	441

^a 1 din 137 a prezentat o infecție mixtă cu MRSA și SA.

^b 2 din 3 au prezentat infecții mixte cu MRSA și SA.

Acord procentual pozitiv (MRSA+) = 93,8; Interval de încredere 95% = 88,6-97,1

Acord procentual negativ (MRSA+) = 97,3; Interval de încredere 95% = 94,7-98,8

Acord procentual pozitiv (SA+/MRSA+) = 95,7; Interval de încredere 95% = 92,2-97,9

Acord procentual negativ (SA+/MRSA+) = 89,5; Interval de încredere 95% = 84,6-93,3

Dintre subiecții care nu au utilizat antibiotice în decurs de 3 săptămâni înainte de colectarea probelor, testul Xpert MRSA/SA SSTI a identificat 93,8% din probele pozitive pentru MRSA și 97,3% din probele negative pentru MRSA în raport cu metoda culturii de referință și 95,7% din probele pozitive pentru SA și 89,5% din probele negative pentru SA în raport cu metoda culturii de referință.

Dintre acești subiecți care nu au utilizat antibiotice, 96,8% (427/441) au avut succes la prima încercare cu testul Xpert MRSA/SA SSTI. Pentru restul de 14 au fost obținute rezultate nedeterminate la prima încercare (6 **NEVALID (INVALID)**, 7 **EROARE (ERROR)** și 1 **FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)**). Dintre cei 14 pentru care au fost obținute rezultate nedeterminate la prima încercare, pentru toți a fost obținut un rezultat la a doua încercare.

Tabelul 6. Performanța MRS/SA la subiecți cu utilizare necunoscută a antibioticelor (în decurs de 3 săptămâni înainte de colectarea probelor) vs. cultura de referință

		Cultură			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Nicio creștere	Total
Xpert	MRSA+	47 ^a	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Total	50	47	103	200

^a 2 din 47 au prezentat infecții mixte cu MRSA și SA.

Acord procentual pozitiv (MRSA+) = 94,0; Interval de încredere 95% = 83,5-98,7

Acord procentual negativ (MRSA+) = 97,3; Interval de încredere 95% = 93,3-99,3

Acord procentual pozitiv (SA+/MRSA+) = 96,9; Interval de încredere 95% = 91,2-99,4

Acord procentual negativ (SA+/MRSA+) = 88,3; Interval de încredere 95% = 80,5-93,8

Când nu s-a cunoscut dacă subiecții au urmat tratament cu antibiotice în decurs de 3 săptămâni înainte de colectarea probelor, testul Xpert MRSA/SA SSTI a identificat 94,0% din probele pozitive pentru MRSA și 97,3% din probele negative pentru MRSA în raport cu metoda culturii de referință și 96,9% din probele pozitive pentru SA și 88,3% din probele negative pentru SA în raport cu metoda culturii de referință.

Dintre acești subiecți cu utilizare necunoscută a antibioticelor, 97,0% (194/200) au avut succes la prima încercare cu testul Xpert MRSA/SA SSTI. Pentru restul de 6 au fost obținute rezultate nedeterminate la prima încercare (2 **NEVALID (INVALID)**, 3 **EROARE (ERROR)** și 1 **FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)**). Dintre cei 6 pentru care au fost obținute rezultate nedeterminate la prima încercare, pentru toți a fost obținut un rezultat la a doua încercare.

Tabelul 7. Performanța MRSA/SA la subiecți cu utilizare cunoscută a antibioticelor (în decurs de 3 săptămâni înainte de colectarea probelor) vs. cultura de referință

		Cultură			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Nicio creștere	Total
Xpert	MRSA+	44	2	10	56
	SA+/MRSA-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Total	50	34	123	207

Acord procentual pozitiv (MRSA+) = 88,0; Interval de încredere 95% = 75,7-95,5

Acord procentual negativ (MRSA+) = 92,4; Interval de încredere 95% = 87,0-96,0

Acord procentual pozitiv (SA+/MRSA+) = 95,2; Interval de încredere 95% = 88,3-98,7

Acord procentual negativ (SA+/MRSA+) = 76,4; Interval de încredere 95% = 67,9-83,6

Dintre subiecții cu utilizare cunoscută a antibioticelor în decurs de 3 săptămâni înainte de colectarea probelor, testul Xpert MRSA/SA SSTI a identificat 88,0% din probele pozitive pentru MRSA și 92,4% din probele negative pentru MRSA în raport cu metoda culturii de referință și 95,2% din probele pozitive pentru SA și 76,4% din probele negative pentru SA în raport cu metoda culturii de referință.

Dintre acești subiecți care au utilizat antibiotice, 96,1% (199/207) dintre aceste probe eligibile au avut succes la prima încercare cu testul Xpert MRSA/SA SSTI. Pentru restul de 8 au fost obținute rezultate nedeterminate la prima încercare (5 **NEVALID (INVALID)** și 3 **EROARE (ERROR)**). Dintre cele 8 pentru care au fost obținute rezultate nedeterminate la prima încercare, pentru toate a fost obținut un rezultat la a doua încercare.

21.3 Variante cu casetă goală

Pentru ca un izolat să fie identificat ca fiind MRSA pozitiv cu testul Xpert MRSA/SA SSTI, testul pentru *spa* trebuie să fie pozitiv, precum și testul pentru *mecA* și *SCCmec*. Un izolat care este pozitiv pentru *spa* și *SCCmec*, dar nu pentru *mecA*, este raportat ca fiind SA, deoarece este sensibil la meticilină. Această situație poate apărea atunci când porțiunea elementului *SCCmec* care poartă *mecA* este excizată, dar capetele acestui element mobil rămân la locul lor, producând un semnal *SCCmec* pozitiv. Aceste izolate sunt uneori denumite „variante cu casetă goală” și nu sunt neobișnuite în mediul clinic. Semnificația acestor izolate este de a confunda potențial un test pentru MRSA care nu detectează direct gena *mecA*. Testul Xpert MRSA/SA SSTI a fost conceput pentru a identifica corect aceste variante ca SA.

Dintre probele eligibile incluse în analizele de date prezentate în acest raport, un total de 16 izolate se încadrează în profilul de casetă goală, ducând la rezultate ale testului *spa* și *SCCmec* pozitive, dar nu a fost detectată *mecA* (Ct = 0), așa cum se arată în Tabelul 8. Cincisprezece (15) din cele 16 au fost izolate MRSA negative adevărate verificate în raport cu cultura, iar 14 din 16 au fost izolate SA pozitive adevărate verificate în raport cu cultura. Un izolat a fost identificat ca MRSA în raport cu cultura și 2 izolate au fost atât MRSA, cât și SA negative în raport cu cultura.

Tabelul 8. Performanța MRSA/SA SSTI vs. Cultura de referință — Variante cu casetă goală

Nr. subiect	Rezultat Xpert	<i>spa</i> (Ct)	<i>mecA</i> (Ct)	SCCmec (Ct)	Cultură	XPert vs. Cultură	
						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 Performanță analitică

22.1 Studiu privind specificitatea analitică - reactivitatea încrucișată

O sută cinci (105) tulpini au fost colectate, cuantificate și testate folosind testul Xpert MRSA/SA SSTI. Cele 98 de culturi din Colecția americană de culturi tip (ATCC) și 7 tulpini din Rețeaua privind rezistența antimicrobiană la *Staphylococcus aureus* (NARSA) reprezintă specii legate filogenetic de *Staphylococcus aureus* sau cele potențial întâlnite într-un mediu spitalicesc.

Dintre acestea, au fost incluși stafilococi coagulazo-negativi sensibili la meticilină (29) și stafilococi coagulazo-negativi rezistenți la meticilină (9). Organismele testate au fost identificate ca fiind Gram pozitive (74), Gram negative (28) sau levuri (3). Organismele au fost în continuare clasificate fie ca aerobe (95), fie ca anaerobe (10).

Două (2) sau mai multe replicare ale fiecărui izolat au fost testate la 1,7-3,2 unități McFarland. În condițiile studiului, toate izolatele au fost raportate ca fiind MRSA negative și SA negative; niciunul dintre izolate nu a fost detectat de testul Xpert MRSA/SA SSTI. În cadrul studiului au fost incluse controale pozitive și negative. Specificitatea analitică a fost de 100%.

22.2 Evaluarea tulpinilor de BORSA

Au fost testate șapte (7) tulpini de *Staphylococcus aureus* rezistent la oxacilină la limită (BORSA), bine caracterizate, inclusiv o „casetă aparent goală” (a se vedea mai sus). *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină este rezistent la toate medicamentele β-lactamice prin proteina alternativă PBP2a care se leagă de penicilină, codificată de *mecA*¹⁵. Tulpinile de BORSA sunt *mecA* negative, dar prezintă o concentrație inhibitorie minimă de oxacilină (CMI) ≥ 2 și ≤ 8 μg/ml. Este deosebit de valoros să se distingă MRSA de BORSA pentru a preveni utilizarea inutilă și necorespunzătoare a vancomicinei și precauțiile de izolare care nu se justifică pentru pacienții infectați cu o tulpină sensibilă la β-lactamă¹⁶.

În condițiile acestui studiu, toate cele 7 izolate de BORSA (inclusiv izolatul de „casetă aparent goală”) au fost raportate ca fiind MRSA negative/SA pozitive la concentrații celulare atât ridicate, cât și scăzute utilizând testul Xpert MRSA/SA SSTI. Nu au fost raportate semnale *mecA*. Aceste rezultate demonstrează că o tulpină de BORSA va fi identificată corect ca fiind MRSA negativă/SA pozitivă și nu va raporta un rezultat al testului fals pozitiv pentru MRSA utilizând testul Xpert MRSA/SA SSTI.

22.3 Sensibilitate analitică

Studii privind limita de detecție

S-au efectuat studii pentru a determina intervalele de încredere de 95% pentru limita analitică de detecție (LoD) a celulelor de *Staphylococcus aureus* (SA) și a celulelor de *Staphylococcus aureus* rezistente la meticilină (MRSA) diluate într-o matrice surogat de plagă de origine umană. Matricea surogat de plagă a constat dintr-un concentrat de leucocite (WBC) preparat din sânge integral prin centrifugare. Matricea a conținut, de asemenea, eritrocite (RBC) și plasmă și o cantitate neglijabilă de anticoagulant (CPD sau CPDA-1). Limita de detecție este definită ca fiind cel mai mic număr de unități formatoare de colonii (CFU) per probă care poate fi diferențiat în mod reproductibil din probele negative cu un interval de încredere de 95% sau cea mai scăzută concentrație la care 19 din 20 de replicare au fost pozitive.

Pentru MRSA, au fost evaluate 20 de replicare la fiecare concentrație de MRSA testată (CFU/tampon) pentru 6 izolate individuale reprezentând SCC*mec* tipurile I, II, III, IVa, V și VI. Atunci când se caracterizează prin electroforeză în gel cu câmp pulsant (PFGE), au fost reprezentate USA100, cea mai comună tulpină dobândită în spital, și USA400, una dintre cele mai comune tulpini dobândite comunitar.

Pentru SA, au fost evaluate 20 de replicare la fiecare concentrație de SA (CFU/tampon) pentru 3 izolate individuale de SA. Au fost reprezentate tipurile SUA USA900 și USA1200.

Intervalele de estimare și de încredere au fost determinate folosind regresia logistică cu date (numărul de rezultate pozitive per număr de replicare la fiecare nivel) din intervalul de CFU/tampon testat. Intervalele de încredere au fost determinate folosind estimări de maximă probabilitate pe parametrii modelului logistic utilizând matricea eșantion amplă de varianță-covarianță. Estimările punctului LoD și intervalele de încredere de 95% superior și inferior pentru fiecare SA și fiecare MRSA tip SCC*mec* testat sunt rezumate în Tabelul 9 și Tabelul 10.

Tabelul 9. Intervale de încredere de 95% pentru LoD analitică - SA

ID tulpină SA	PFGE	LoD (CFU/tampon)	Î 95% inferior	Î 95% superior
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	necunoscut	123	97	188

Tabelul 10. Intervale de încredere de 95% pentru LoD analitică - MRSA

ID tulpină MRSA	Tip SCCmec	PFGE	LoD (CFU/tampon)	Î 95% inferior	Î 95% superior
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	necunoscut	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Rezultatele acestui studiu indică faptul că testul Xpert MRSA/SA SSTI va genera un rezultat pozitiv pentru SA 95% din timp cu o încredere de 95% pentru un tampon de plagă care conține 150 CFU și un rezultat pozitiv pentru MRSA 95% din timp cu o încredere de 95% pentru un tampon de plagă care conține 300 CFU.

Au fost testate o sută douăzeci și unu (121) de tulpini suplimentare de *Staphylococcus aureus* folosind testul Xpert MRSA/SA SSTI. Culturile obținute peste noapte au fost cultivate în mediul de Infuzie creier-cord (BHI) și ajustate la 0,5 unități McFarland. Toate tulpinile au fost testate în triplicat folosind 100 μl de culturi diluate în continuare de 100 mii până la un milion de ori.

Tulpinile de MRSA (78) și SA (43) au fost selectate pentru a reprezenta pe larg gama diversității genetice găsite în speciile de *Staphylococcus aureus* pe baza structurii filogenetice. Selecțiile reprezintă linii primare cu accent pe complexe clonale specifice în cadrul cărora MRSA este predominant observat. Au fost incluse linii care conțin MRSA și SA, precum și linii care conțin exclusiv SA.

Testul Xpert MRSA/SA SSTI a identificat corect 116 din 121 de tulpini. Cele 5 tulpini discordante au fost caracterizate prin catalază, coagulază tubulară și colorare Gram. Rezistența la oxacilină mediata de *MecA* a fost evaluată prin difuzia discului utilizând un disc de 30 μg cefoxitină și un diametru de referință de 21/22 mm.

Trei (3) din 78 de tulpini de MRSA au fost raportate ca fiind MRSA negative/SA pozitive folosind testul Xpert MRSA/SA SSTI. Caracterizarea ulterioară indică faptul că aceste tulpini nu sunt rezistente și au fost raportate corect ca fiind MRSA negative; SA pozitive.

Două (2) din 43 de tulpini de SA au fost raportate ca fiind MRSA pozitive/SA pozitive folosind testul Xpert MRSA/SA SSTI. Caracterizarea ulterioară indică faptul că aceste tulpini sunt rezistente și au fost raportate corect ca fiind MRSA pozitive/SA pozitive.

Fiecare dintre cele 12 izolate de USA300 cunoscute au fost raportate corect ca fiind MRSA pozitive și SA pozitive așa cum era de așteptat.

23 Evaluarea variantelor cu casetă goală

Douăzeci și două (22) de izolate de *Staphylococcus aureus* identificate ca „variante cu casetă goală” au fost testate folosind testul Xpert MRSA/SA SSTI. Culturile obținute peste noapte au fost ajustate la 0,5 unități McFarland. Toate tulpinile au fost testate din culturi diluate în continuare de 100 de ori (ridicat) și de 100 de mii de ori (reduc).

Testul Xpert MRSA/SA SSTI a identificat corect toate cele 22 de izolate ca fiind MRSA negative și SA pozitive. La ambele concentrații celulare testate, au fost raportate doar praguri de ciclu (Ct) pentru țintele *spa* și *SCCmec*. Nu au fost raportate praguri de ciclu (Ct) pentru *mecA*.

24 Studiu privind contaminarea prin transfer

Un studiu a fost efectuat pentru a demonstra că cartușele GeneXpert de unică folosință autonome împiedică contaminarea prin transfer a probelor negative, dacă este urmată de probe puternic pozitive în același modul GeneXpert. Studiul a constat dintr-o probă negativă, procesată în același modul GeneXpert imediat după o probă MRSA puternic pozitivă (aproximativ 10^7 CFU/test). Aceasta a fost repetată de 20 de ori pe 2 module GeneXpert pentru un total de 42 de rulări. Nu au existat dovezi ale vreunei contaminări prin transfer. Toate cele 21 de probe pozitive au fost raportate corect ca fiind MRSA pozitive/SA pozitive. Toate cele 21 de probe negative au fost raportate corect ca fiind MRSA negative/SA negative.

25 Reproductibilitate

Un grup de 10 probe cu concentrații variate de SA, MRSA și *Staphylococcus epidermidis* (negativ) au fost testate în duplicat în 10 zile diferite la fiecare dintre cele trei centre (10 probe x 2 ori/zi x 10 zile x 3 centre). Un lot din trusa Xpert MRSA/SA a fost utilizat la fiecare dintre cele 3 centre de testare. Testele Xpert MRSA/SA au fost efectuate conform procedurii de testare Xpert MRSA/SA SSTI.

Tabelul 11. Rezumatul rezultatelor privind reproductibilitatea

ID-ul probei	Centrul 1	Centrul 2	Centrul 3	Acord total
Neg. (MSSE)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
SA puternic neg.	100% (20/20)	100% (20/20)	90% (18/20)	96,7% (58/60)
SA slab poz.	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	98,3% (59/60)
MRSA1 puternic neg.	100% (20/20)	90% (18/20)	100% (20/20)	96,6% (58/60)
MRSA1 slab poz.	100% (20/20)	100% (20/20)	90% (18/20)	96,6% (58/60)
MRSA2 puternic neg.	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA2 slab poz.	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96,6% (58/60)
% acord total în funcție de centru	100% (140/140)	97,9% (137/140)	95,7% (134/140)	97,9% (411/420)

Tabelul 12. Rezumatul rezultatelor valorii Ct în funcție de nivelul probei și sondă

Nivel	Medie	Dev. std	%CV
SPC			
MRSA1 puternic neg.	34,52	0,82	2,36
MRSA2 puternic neg.	34,46	0,85	2,46
Neg. (MSSE)	34,44	0,90	2,62
SA puternic neg.	34,38	0,92	2,66
spa			
Nivel	Medie	Dev. std	%CV
MRSA1 slab poz.	32,96	0,8	2,44
MRSA2 slab poz.	31,05	0,69	2,21
SA slab poz.	33,91	0,8	2,35
mecA			
Nivel	Medie	Dev. std	%CV

Nivel	Medie	Dev. std	%CV
MRSA1 slab poz.	33,25	0,80	2,40
MRSA2 slab poz.	31,50	0,68	2,16
SCCmec			
Nivel	Medie	Dev. std	%CV
MRSA1 slab poz.	34,19	0,90	2,63
MRSA2 slab poz.	33,13	0,68	2,05

Un al doilea studiu de reproductibilitate a fost efectuat folosind un grup de 4 probe de (SA: 10X LoD, MRSA1: 10X LoD, MRSA2: 10X LoD și Control negativ: *Staphylococcus epidermidis*). Grupurile au fost testate în duplicat în 10 zile diferite la fiecare dintre cele trei centre (4 probe x 2 ori/zi x 10 zile x 3 centre). Un lot de teste Xpert MRSA/SA SSTI a fost utilizat la fiecare dintre cele 3 centre de testare. Testele Xpert MRSA/SA SSTI au fost efectuate conform procedurii de testare Xpert MRSA/SA SSTI. Au fost obținute rezultate corecte la 239 din 240 de teste.

Tabelul 13. Rezumatul rezultatelor privind reproductibilitatea

ID-ul probei	Centrul 1	Centrul 2	Centrul 3	Acord total
Neg. (MSSE)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
SA moderat poz. ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA1 moderat poz. ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA2 moderat poz. ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	98,3% (59/60)
% acord total în funcție de centru	100% (80/80)	100% (80/80)	98,8% (79/80)	99,6% (239/240)

^a 10X LoD

Tabelul 14. Rezumatul rezultatelor valorii Ct în funcție de nivelul probei și sondă

Nivel	Medie	Dev. std	%CV
SPC			
MRSA1 moderat poz.	35,72	1,87	5,24
MRSA2 moderat poz.	36,29	2,66	7,34
SA moderat poz.	34,55	1,19	3,44
NEG	34,45	1,06	3,09
spa			
Nivel	Medie	Dev. std	%CV
MRSA1 moderat poz.	29,52	1,30	4,40
MRSA2 moderat poz.	28,91	1,03	3,57
SA moderat poz.	30,59	0,91	2,99
mecA			
Nivel	Medie	Dev. std	%CV
MRSA1 moderat poz.	29,78	1,28	4,29

Nivel	Medie	Dev. std	%CV
MRSA2 moderat poz.	29,32	1,24	4,22
SCCmec			
Nivel	Medie	Dev. std	%CV
MRSA1 moderat poz.	31,49	1,26	3,99
MRSA2 moderat poz.	31,05	1,12	3,59

26 Referințe

- Bannerman TL. 2003 Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Paginile 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 (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (consultați cea mai recentă ediție).
- 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.
- 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.
- Kanegaye JT, Solimanzadeh 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.
- Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. Sep;131:785-787.
- 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.
- 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.
- REGULAMENTUL (CE) NR. 1272/2008 AL PARLAMENTULUI EUROPEAN ȘI AL CONSILIULUI din 16 decembrie 2008 privind clasificarea, etichetarea și ambalarea substanțelor și a amestecurilor, de modificare și de abrogare a Directivelor 67/548/CEE și 1999/CE (precum și de modificare a Regulamentului (CE) nr. 1907/2006). Lista frazelor de precauție.
- Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

27 Locațiile sediului central al Cepheid

Sediul central

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sediul din Europa

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

28 Asistență tehnică

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

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

Statele Unite




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















Franța

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

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

29 Tabel de simboluri

Simbol	Semnificație
	Număr de catalog
	Dispozitiv medical de diagnosticare <i>in vitro</i>
	A nu se reutiliza

Simbol	Semnificație
	Cod lot
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Atenționare
	Producător
	Țara de fabricație
	Conține suficient pentru n teste
	Control
	Data expirării
	Marcaj CE – Conformitate europeană
	Limită de temperatură
	Avertisment
	Riscuri biologice
	Reprezentant autorizat în Elveția
	Importator



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 Istoricul revizuirilor

Secțiunea	Descrierea modificării
Tabel de simboluri	S-au adăugat simbolurile CH REP și importator, precum și definițiile în tabelul cu simboluri. S-au adăugat informațiile pentru CH REP și importator cu adresa din Elveția.
Istoricul revizuirilor	S-a actualizat tabelul Istoricul revizuirilor.