

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Uputstvo za upotrebu

CE **IVD**

Obaveštenja o zaštitnim znakovima, patentima i autorskom pravu

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 logotip, GeneXpert[®] i Xpert[®] su zaštitni znakovi kompanije Cepheid, registrovani u SAD-u i drugim zemljama.

Svi ostali zaštitni znakovi su vlasništvo njihovih vlasnika.

KUPOVINA OVOG PROIZVODA PRENOSI KUPCU NEPRENOSIVO PRAVO DA GA KORISTI U SKLADU SA OVIM UPUTSTVOM ZA UPOTREBU. NIKAKVA DRUGA PRAVA SE NE PRENOSE IZRIČITO, IMPLIKACIJOM ILI ZABRANOM. ŠTAVIŠE, NIKAKVA PRAVA NA DALJU PRODAJU SE NE DOBIJAJU KUPOVINOM OVOG PROIZVODA.

© 2019–2023 Cepheid.

Pogledajte, Odeljak 30, Istoriju revizija za opis promena.

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

Samo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

1 Vlasničko ime

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2 Opšte prihvaćeni ili uobičajeni naziv

Xpert MRSA/SA SSTI

3 Namena

Cepheid Xpert[®] MRSA/SA test za inficiranu kožu i meko tkivo (Xpert[®] MRSA/SA SSTi test) koji se izvodi na GeneXpert[®] Dx sistemu je kvalitativni *in vitro* dijagnostički test namenjen za detekciju *Staphylococcus aureus* (SA) i meticilin-rezistentnog *Staphylococcus aureus* (MRSA) iz briseva inficirane kože i mekih tkiva. Test koristi automatizovanu lančanu reakciju polimeraze u realnom vremenu (PCR) u cilju detekcije MRSA/SA DNK. Xpert MRSA/SA SSTI test je indikovano za upotrebu zajedno sa drugim laboratorijskim testovima, kao što su mikrobiološka kultura, i kliničkim podacima koji su dostupni lekaru, kao pomoć u detekciji MRSA/SA iz inficirane kože i mekog tkiva. Xpert MRSA/SA SSTI test nije namenjen za nadzor lečenja MRSA/SA infekcija. Konkomitantne kulture za SA i MRSA su neophodne za oporavak mikroorganizama za testiranje osetljivosti ili epidemiološku tipizaciju.

4 Sažetak i objašnjenje

Staphylococcus aureus (SA) je dobro dokumentovani humani oportunistički patogen i glavni bolnički patogen koji uzrokuje paletu bolesti. Neke od ovih bolesti uključuju infekcije kože i mekog tkiva, uključujući kurbunkul i čireve, kao i postoperativne infekcije rana na različitim mestima. Kao bolnički patogen, *S. aureus* je glavni uzročnik morbiditeta i mortaliteta. *S. aureus* infekcije su često akutne i piogene i ako se ne leče, mogu se proširiti na okolno tkivo ili se putem bakterijemije mogu preneti na udaljena mesta (uključujući ostale organe). Neke od težih infekcija koje uzrokuje *S. aureus* su bakterijemija, pneumonija, osteomijelitis, akutni endokarditis, toksični šok sindrom, trovanje hranom, miokarditis, perikarditis, cerebritis, meningitis, horioamnionitis, sindrom oparene kože, apscesi mišića, urogenitalnog trakta, centralnog nervnog sistema i različitih intraabdominalnih organa.¹

Ranih pedesetih godina prošlog veka, nabavka i širenje beta-laktamskih plazmida osujetili su efikasnost penicilina za lečenje *S. aureus* infekcija. 1959. godine, predstavljen je meticilin, sintetički penicilin. Međutim, do 1960. godine identifikovani su meticilin-rezistentni sojevi *S. aureus*. To je bio rezultat sticanja *mecA* gena od strane *S. aureus*. Danas u SAD-u, MRSA soj je odgovoran za približno 25% bolničkih infekcija, a izveštaji o soju MRSA stečenom u zajednici se povećavaju, što dovodi do značajnog morbiditeta i mortaliteta. Zabeleženi su smrtni ishodi od 33%, a 16% je prijavljeno za MRSA i meticilin-senzitivne *S. aureus* (SA) bakterijemije. Postoji i zabrinutost o povećanim troškovima kad se radi o MRSA infekcijama. U pokušaju da se ograniči širenje ovih infekcija, razvijaju se i implementiraju strategije i politike za kontrolu u zdravstvenim okruženjima. Primarni fokus većine programa za kontrolu bolničkih infekcija je kontrola MRSA. Trenutno, standardna metoda za detekciju MRSA i SA je kultura, što je veoma zahtevno i može biti potrebno nekoliko dana za generisanje konačnog rezultata.^{2,3,4,5,6,7}

5 Princip postupka

The GeneXpert sistemi automatizuje i integriše pročišćavanje uzorka, amplifikaciju nukleinskih kiselina i detekciju ciljane sekvence u jednostavnim ili složenim uzorcima pomoću PCR analiza u realnom vremenu. sistemi sastoje od instrumenta, računara i unapred instaliranog softvera za obavljanje testova i pregled rezultata. sistemi zahteva upotrebu patrona za jednokratnu upotrebu koje sadrže PCR reagens i koje su domaćini PCR procesa. Kako su patrone samostalne, unakrsna kontaminacija između uzoraka je svedena na minimum. Za potpuni opis sistema, pogledajte odgovarajući *GeneXpert Dx priručnik za operatera* ili *GeneXpert Infinity sistem priručnik za operatera*.

Xpert MRSA/SA SSTI test obuhvata reagens za detekciju MRSA i SA, kao i za obradu kontrole uzorka (SPC) radi kontrole odgovarajuće obrade ciljane bakterije i nadzor prisustva inhibitora u PCR reakciji. SPC takođe obezbeđuje da uslovi (temperatura i vreme) PCR reakcije budu odgovarajući za reakciju amplifikacije, kao i da su PCR reagensi funkcionalni. Kontrola provere probe (PCC) potvrđuje rehidraciju reagensa, postavljanje PCR epruvete u patronu, integritet probe i stabilnost boje.

Prajmeri i probe u Xpert MRSA/SA SSTI testu detektuju vlasničke sekvence za stafilokokni protein A (*spa*), gen za rezistenciju na meticilin (*mecA*) i stafilokokni hromozom kasete (*SCCmec*) umetnut u SA hromozomsko *attB* mesto.

6 Reagensi i instrumenti

6.1 Priloženi materijal

Xpert MRSA/SA SSTI komplet sadrži dovoljno reagenasa za obradu 10 uzoraka, ili uzoraka za kontrolu kvaliteta. Komplet sadrži sledeće:

Xpert MRSA/SA SSTI patrone sa integrisanim reakcionim epruvetama	10
<ul style="list-style-type: none"> Zrno 1, zrno 2 i zrno 3 (liofilizovano) Reagens 1 Reagens 2 (natrijum-hidroksid) 	1 po patroni 3,0 ml po patroni 3,0 ml po patroni
Xpert MRSA/SA SSTI vrećica sa reagensom za eluciju	10 x 2,0 ml po vrećici
<ul style="list-style-type: none"> Reagens za eluciju (gvanidinijum tiocijanat) 	
CD	1 po kompletu
<ul style="list-style-type: none"> Datoteka za definiciju testa (ADF) Uputstva za uvoz ADF-a u GX softver Uputstvo za upotrebu (uputstvo za korisnika) 	

Напомена

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

Напомена

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

6.2 Skladištenje i rukovanje

- Skladištite patrone i reagens Xpert MRSA/SA SSTI testa na temperaturi od 2 – 28°C.
- Nemojte koristiti reagens i patrone kojima je istekao rok trajanja.
- Nemojte otvarati patronu dok niste spremni za testiranje.
- Nemojte koristiti nijedan reagens koji je postao zamućen ili je promenio boju.

7 Materijali koji su potrebni, ali nisu obezbeđeni

- GeneXpert Dx instrumenata (kataloški broj se razlikuje u zavisnosti od konfiguracije): GeneXpert instrument, računar sa zaštićenim GeneXpert softverom verzije 4.3 ili novijom, ručni bar-kod čitač i priručnik za operatera
- Štampač: Ako je štampač neophodan, obratite se tehničkoj podršci kompanije Cepheid da dogovorite kupovinu preporučenog štampača.
- Cepheid uređaj za prikupljanje uzoraka (900-0370) ili Copan ekvivalent
- Vorteks mešalica
- Jednokratne pipete za prenos
- Sterilna gaza


8 Dostupni materijali koji nisu priloženi

KWIK-STIKs™ iz Microbiologics kataloški broj 0158MRSA i kataloški broj 0360SA kao spoljne pozitivne kontrole i broj 0371MSSE (meticilin-senzitivan *Staphylococcus epidermidis*) kao spoljna negativna kontrola.

9 Upozorenja i mere predostrožnosti

- Postupajte sa svim biološkim uzorcima, uključujući iskorišćene patrone i reagense, kao da mogu da prenesu infektivne agense. Kako često nije moguće znati šta bi moglo biti zarazno, prema svim biološkim uzorcima se treba odnositi u skladu sa standardnim merama predostrožnosti. Smernice za rukovanje uzorcima dostupne su u američkim Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti,⁸ i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde.⁹
- U mešovitoj kulturi koja sadrži MRSA/SA i druge mikroorganizme (npr. Gram-negativni bacili, gljivice), rezultati mogu biti lažno negativni ili mogu varirati u zavisnosti od koncentracije prisutne MRSA/SA, posebno ako je koncentracija MRSA/SA blizu LoD testa.
- Pridržavajte se sigurnosnih procedura vaše ustanove za rad sa hemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Xpert MRSA/SA SSTI test može detektovati MRSA /ili SA DNK iz nevjabilnih mikroorganizama. Verovatnoća da se ovo dogodi se povećava za pacijente na antibioticima.
- Xpert MRSA/SA SSTI test ne pruža rezultate testiranja na antimikrobnu osetljivost. Potrebno je dodatno vreme za kulturu i obavljanje testiranja osetljivosti.
- Nemojte zamenjivati reagense za Xpert MRSA/SA SSTI test sa drugim reagensima.
- Nemojte otvarati poklopac patrone Xpert MRSA/SA SSTI testa osim kada dodajete uzorak i reagens, ili kada obavljate ponovno testiranje.
- Nemojte koristiti patronu koja vam je ispala ili koja je protrešena nakon dodavanja uzorka ili reagensa.
- Nemojte koristiti patronu čija je reakciona epruveta oštećena.
- Svaka jednokratna patrona Xpert MRSA/SA SSTI testa koristi se za obradu jednog testa. Nemojte ponovo koristiti iskorišćene patrone.
- Biološke uzorke, sredstva za prenos i korišćene patrone treba smatrati sposobnim za prenos infektivnih agenasa i zahtevaju standardne mere predostrožnosti. Pridržavajte se procedura za pravilno odlaganje iskorišćenih patrona i neiskorišćenih reagenasa u vašoj ustanovi. Ovi materijali mogu pokazati karakteristike hemijski opasnog otpada i zahtevaju posebnu nacionalnu ili regionalnu proceduru za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne daju jasne smernice o pravilnom odlaganju, biološke uzorke i iskorišćene patrone treba odlagati prema smernicama WHO (SZO, Svetska zdravstvena organizacija) za rukovanje medicinskog otpada.
- Nemojte otvarati poklopac patrone dok niste spremni za testiranje.

10 Opasnosti od hemikalija^{17,18}

- UN GHS piktogram opasnosti: 
- Signalna reč: UPOZORENJE
- UN GHS obaveštenja o opasnosti
 - Štetno ako se proguta
 - Izaziva iritaciju kože
 - Izaziva ozbiljnu iritaciju očiju
- UN GHS obaveštenja o merama predostrožnosti

- **Prevenција**
 - Temeljno oprati nakon rukovanja.
 - Nemojte jesti, piti, niti pušiti pri upotrebi ovog proizvoda.
 - Izbegavajte ispuštanje u životnu sredinu.
 - Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu oděcu/zaštitu za oči/zaštitu za lice
- **Reagovanje**
 - U DODIRU SA KOŽOM: Operite sa puno sapuna i vode.
 - Skinite kontaminiranu oděcu i operite je pre ponovne upotrebe.
 - Za specifično lečenje pogledajte dodatak sa informacijama o merama prve pomoći.
 - Ako dođe do iritacije kože: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
 - AKO DOSPE U OČI: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktna sočiva, ukoliko postoje i ukoliko je to moguće učiniti. Nastaviti sa ispiranjem.
 - Ako iritacija oka ne prolazi: Potražiti medicinski savet/mišljenje
 - AKO SE PROGUTA: Odmah pozovite CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili se obratite lekaru ako se ne osećate dobro.
 - Isperite usta.
- **Skladištenje/odlaganje**
 - Odlagati sadržaj i/ili kontejner u skladu sa lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili internacionalnim propisima.

11 Prikupljanje uzorka, Transport i Skladištenje

Uzorci briseva sa inficirane kože i mekog tkiva mogu se uzeti pomoću Cepheid uređaja za prikupljanje uzoraka uz poštovanje standardnih procedura ustanove korisnika. Uzorci sa štapića se vraćaju nazad u plastičnu epruvetu za transport (preporučuju se tečni Stjuartov medijum, Cepheid ili Copan uređaj za prikupljanje uzoraka), čuvaju se na sobnoj temperaturi i šalju u GeneXpert oblast testiranja na obradu u toku narednog dana. Preostali netestirani štapić za mikrobiologiju treba postaviti u odgovarajuće transportne sisteme i kultivisati ih u roku od 4 dana. Ako se ne pošalje u toku narednog dana, uzorak treba transportovati na ledu. Alternativno, štapići se mogu čuvati na temperaturi od 2-8°C za testiranje do 5 dana.

12 Mikrobiološka kultura

Za SSTI metode kultivacije, sledite aktuelne laboratorijske standardne operativne procedure. Za kultivisanje, preostale netestirane uzorke briseva treba postaviti u odgovarajuće transportne sisteme i kultivisati ih u roku od 4 dana.

13 Postupak

13.1 Priprema patrone

Важно **Započnite test u roku od 15 minuta od dodavanja reagensa u patronu.**

Da biste dodali uzorak i reagens za eluciju u patronu:

1. Izvadite patronu i reagens za eluciju iz pakovanja.
2. Izvadite štapić iz transportnog kontejnera.

Напомена **Koristite sterilnu gazu za rukovanje štapićem kako biste rizik od kontaminacije sveli na minimum.**

3. Umetnite štapić u epruvetu koja sadrži reagens za eluciju i polomite ga.
4. Zatvorite bočicu za eluciju i promešajte je u vorteks mešalici pri velikoj brzini u trajanju od 10 sekundi.
5. Otvorite poklopac patrone. Pomoću sterilne pipete za prenos, prenesite celokupan sadržaj reagensa za eluciju u komoru za uzorke patrone Xpert MRSA/SA SSTI testa.
6. Zatvorite poklopac patrone.



Узорак коморе
(Велико отварање)

Slika 1. Xpert MRSA/SA SSTI patrona (pogled odozgo)

13.2 Započinjanje testa

Важно

Pre započinjanja testa, uverite se da je datoteka za definiciju analize za Xpert MRSA/SA SSTI testa uvezena u softver.

Ovaj odeljak navodi podrazumevane korake za rukovanje GeneXpert sistemom instrumenata. Za detaljna uputstva, pogledajte *GeneXpert Dx sistem priručnik za operatera* ili *GeneXpert Infinity priručnik za operatera*.

1. Uključite GeneXpert sistem instrumenta:

Напомена

Koraci koje pratite mogu se razlikovati ako je administrator sistema promenio podrazumevani tok rada sistema.

- Ako koristite GeneXpert Dx instrument, prvo uključite instrument, a zatim uključite računar. Softver GeneXpert će se automatski pokrenuti ili će možda biti potrebno dvaput kliknuti na ikonu prečice za GeneXpert Dx softver na Windows® radnoj površini.
 - ili
 - Ako koristite GeneXpert Infinity instrument, uključite instrument. GeneXpert softver će se automatski pokrenuti ili će možda biti potrebno dvaput kliknuti na ikonu prečice za Xpertise softver na Windows® radnoj površini.
2. Prijavite se na softver GeneXpert sistem instrumenata koristeći svoje korisničko ime i lozinku
 3. U prozoru GeneXpert sistem, kliknite na **Kreiraj test (Create Test)** (GeneXpert Dx) ili **Nalozi (Orders) i Nalog za test (Order Test)** (Infinity). Otvara se prozor Kreiraj test (Create Test).
 4. Skenirajte ID pacijenta (Patient ID) (opciono). Ako unosite ID pacijenta (Patient ID), pobrinite se da ID pacijenta (Patient ID) bude tačno upisan. ID pacijenta (Patient ID) je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru View Results (Prikaz rezultata).
 5. Skenirajte ili unesite ID uzorka (Sample ID). Ako unosite ID uzorka (Sample ID), pobrinite se da ID uzorka (Sample ID) bude tačno unet. ID uzorka je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru View Results (Prikaz rezultata).
 6. Skenirajte bar-kod na Xpert MRSA/SA SSTI patroni. Korišćenjem informacija sa bar-koda, softver automatski popunjava sledeća polja: Izbor testa (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), serijski broj patrone (Cartridge SN) i datum isteka roka (Expiration Date).

Напомена

Ako se bar-kod na Xpert MRSA SA/SSTI patroni ne skenira, ponovite test sa novom patronom.

7. Kliknite na **Započni test (Start Test)** (GeneXpert Dx) ili **Prosledi (Submit)** (Infinity). Ukucajte vašu lozinku u okviru za dijalog koji se pojavi.
8. Za GeneXpert Infinity sistem, patronu postavite na pokretnu traku. Patrona će se automatski ubaciti, test će se pokrenuti, a iskorišćena patrona će biti stavljena u kontejner za otpad.

ili

Za GeneXpert Dx instrument:

- a. Otvorite vrata modula instrumenta na kojima trepće zeleno svetlo i ubacite patronu.
- b. Zatvorite vrata. Test započinje i zeleno svetlo prestaje da trepće. Kada je test završen, svetlo se gasi.
- c. Sačekajte dok sistem ne otpusti bravu vrata pre nego što otvorite vrata modula i izvadite patronu.
- d. Iskorišćene patrone treba baciti u odgovarajuće kontejnere za otpad.

14 Prikazivanje i štampanje rezultata

Za detaljnija uputstva o prikazivanju i štampanju rezultata, pogledajte *GeneXpert Dx sistem priručnik za operatera* ili *GeneXpert Infinity sistem priručnik za operatera*.

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

15 Kontrola kvaliteta

15.1 Ugrađene kontrole kvaliteta

Svaki test obuhvata Kontrolu obrade uzorka (SPC ii BG3 u prikazu ekrana sa rezultatima za korisnika na nivou administratora) i Kontrolu provere probe (PCC).

- **Kontrola obrade uzorka (SPC)** — Obezbeđuje da je uzorak pravilno obrađen. SPC sadrži spore *Bacillus globigii* u obliku kolača sa suvim sporama koji je uključen u svaku patronu, kako bi se potvrdila odgovarajuća obrada uzorka Xpert MRSA/SA SSTI testa. SPC potvrđuje da se liza *Staphylococcus aureus* dogodila ako je mikroorganizam prisutan i potvrđuje da je obrada uzorka odgovarajuća. Pored toga, ova kontrola detektuje inhibiciju povezanu sa uzorkom PCR analize u realnom vremenu, obezbeđuje odgovarajuće uslove za PCR reakciju (temperatura i vreme) i reakciju amplifikacije, kao i funkcionalnost PCR reagenasa. SPC treba da bude pozitivna u negativnom uzorku, a može biti negativna ili pozitivna u pozitivnom uzorku. SPC je uspešna ako su kriterijumi za prihvatanje ispunjeni.
- **Kontrola provere probe (PCC)** — Pre početka PCR reakcije, GeneXpert sistem meri fluorescentni signal sa proba kako bi nadgledao rehidrataciju zrna, punjenje reakcione epruvete, integritet probe i stabilnost boje. Provera probe je uspešna ako ispunjava dodeljene kriterijume prihvatljivosti.

15.2 Spoljne kontrole

KWIK-STIKs (Microbiologics, kataloški broj 0158MRSA [SCC*mec* tip II] i kataloški broj 0360SA kao pozitivne kontrole i broj 0371MSSE kao negativna kontrola) mogu se koristiti za obuku, testiranje stručnosti i kao spoljna QC GeneXpert sistema. MRSA sojevi koji predstavljaju druge SCC*mec* tipve, ako su dostupni, mogu se koristiti kao dodatne pozitivne kontrole radi nadzora prajmera i proba analize, koje se ne kontrolišu direktno u analizi. Spoljne kontrole se mogu koristiti u skladu sa akreditovanim institucijama i državnim propisima, kako je primenjivo. Sledite Microbiologics postupak za spoljnu kontrolu, opisan u nastavku:

1. Pocepajte i otvorite vrećicu na zarezu i uklonite KWIK-STIK.
2. Pritisnite dno ampule u poklopac da biste oslobodili hidratantnu tečnost.
3. Držite uspravno i lupkajte kako biste olakšali protok tečnosti kroz vrat prema dnu jedinice koja sadrži pelet.
4. Da biste olakšali rastvaranje liofilizovanog ćelijskog peleta, zgnječite pelet i nežno uštinite donju komoru.
5. Razdvojite KWIK-STIK da biste oslobodili štapić i uvedite ga u epruvetu koja sadrži reagens za eluciju (odšrafite poklopac).
6. KWIK-STIK štapić je sada spreman za Xpert MRSA/SA SSTI testiranje.
7. Ako performanse spoljne QC ne budu onakve kakve se očekuju, ponovite test spoljne kontrole i/ili se obratite kompaniji Cepheid za pomoć.

Primeri rezultata Xpert MRSA/SA SSTI testa prikazani su u Slika 2 do Slika 5.

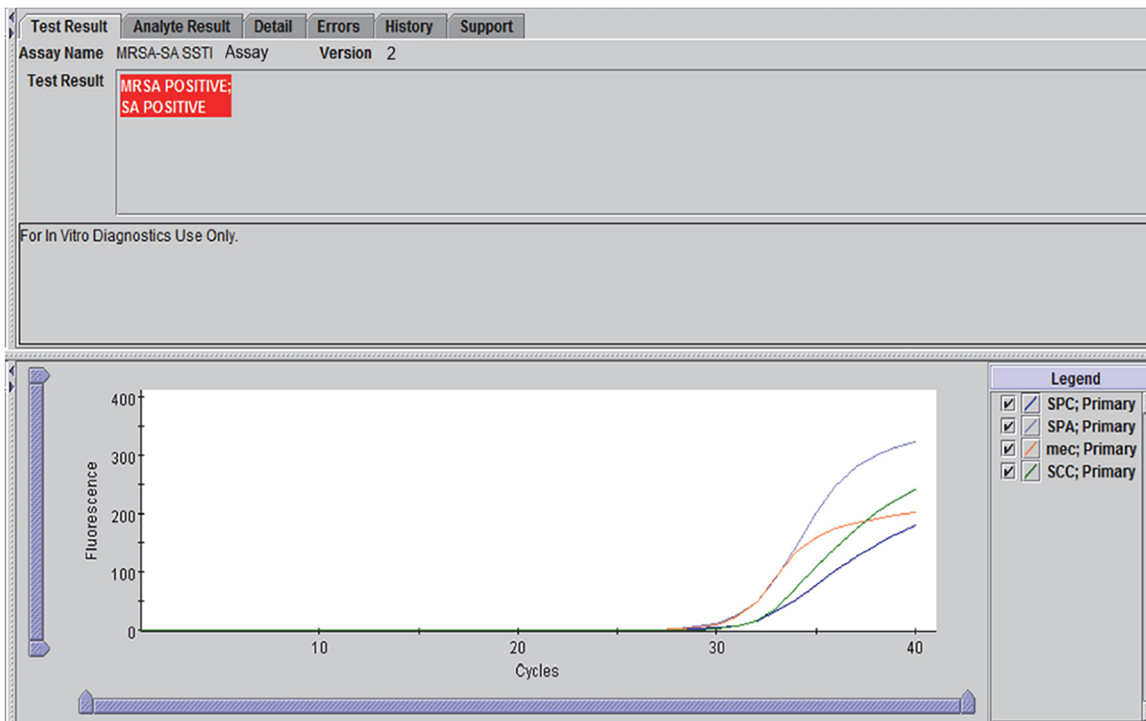
16 Tumačenje rezultata

Rezultati su interpolirani putem GeneXpert sistema iz izmerenih fluorescentnih signala i ugrađenih algoritama za izračunavanje i biće prikazani u **prozoru** Prikaz rezultata (View Results) Mogući rezultati su:

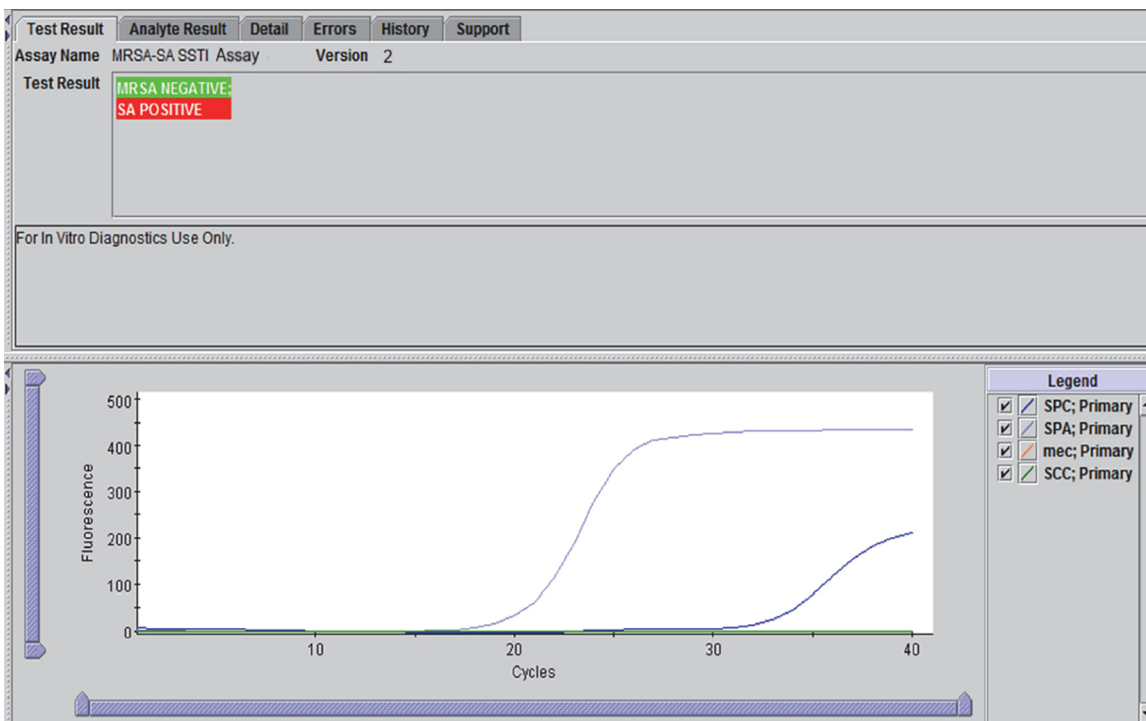
Tabela 1. MRSA/SA SSTI rezultati i tumačenje

Rezultat	Tumačenje
MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE)/SA POZITIVNO (SA POSITIVE) Slika 2	<p>Xpert MRSA/SA SSTI test može detektovati MRSA /ili SA DNK iz nevjabilnih mikroorganizama.</p> <p>Ciljne sekvence DNK za MRSA su detektovane/ciljne sekvence DNK za SA su detektovane.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE) — svi MRSA ciljevi (<i>spa</i>, <i>mecA</i> i <i>SCCmec</i>) imaju prag ciklusa (Ct) u okviru važećeg opsega i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. SPC – NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)); SPC je ignorisana jer MRSA amplifikacija može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
MRSA NEGATIVNO/ SA POZITIVNO (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) Slika 3	<p>Xpert MRSA/SA SSTI test može detektovati MRSA /ili SA DNK iz nevjabilnih mikroorganizama.</p> <ul style="list-style-type: none"> Ciljne sekvence DNK za MRSA nisu detektovane/ciljne sekvence DNK za SA su detektovane. SA POZITIVNO (SA POSITIVE) — SA cilj (<i>spa</i>) ima Ct u okviru važećeg opsega i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. Ciljana DNK za <i>SCCmec</i> nije detektovana, ciljana DNK za <i>mecA</i> može ili ne mora biti detektovana, ili ciljana DNK za <i>SCCmec</i> je detektovana, a ciljana DNK za <i>mecA</i> nije detektovana („prazna kasetta”). SPC – NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)); SPC je ignorisana jer SA amplifikacija može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni. <p>Pozitivan rezultat testa ne ukazuje nužno na prisustvo vijabilnih mikroorganizama. Međutim, pretpostavlja se prisustvo MRSA ili SA.</p>
MRSA NEGATIVNO/SA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) Slika 4	<p><i>Staphylococcus aureus</i> ciljana DNK sekvencija nije detektovana. SPC ispunjava kriterijume za prihvatanje.</p> <ul style="list-style-type: none"> NEGATIVNO (NEGATIVE) — <i>Staphylococcus aureus</i> ciljana (<i>spa</i>) DNK nije detektovana. Ciljana DNK za <i>mecA</i> može ili ne mora biti detektovana, ili ciljana DNK za <i>SCCmec</i> može ili ne mora biti detektovana. SPC — USPEŠNO (PASS); SPC ima Ct u važećem opsegu, a krajnju tačku iznad podešenog praga za krajnju tačku. Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni. <p>Lažno negativno za MRSA (rezultat „MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE); SA POZITIVNO (SA POSITIVE)“ umesto „MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE); SA POZITIVNO (SA POSITIVE)“) može biti se dobiti ako su i MRSA i SA prisutni u uzorku u MRSA:SA odnosu 1:1x10⁶ ili većem.</p> <p>U kliničkim studijama, 5 od 246 MRSA pozitivnih kultura je imalo mešovite infekcije MRSA i SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifikovao je 3 od 5 mešovitih infekcija kao MRSA pozitivno i 2 od 5 kao SA pozitivno/MRSA negativno.</p>

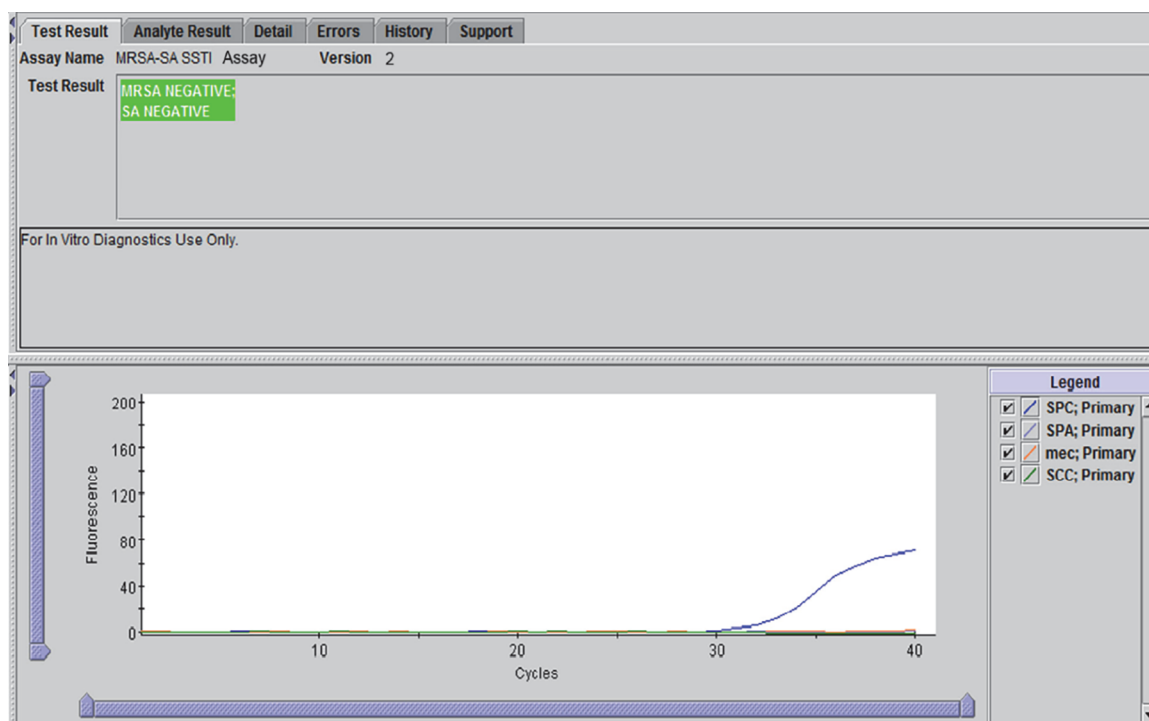
Rezultat	Tumačenje
NEVAŽEĆI (INVALID) Slika 5	<p>Prisustvo ili odsustvo MRSA/SA ciljanih DNK sekvenci ne može biti određeno, ponovite test u skladu sa uputstvima u odeljku u nastavku. SPC ne ispunjava kriterijume prihvatljivosti, uzorak nije pravilno obrađen, ili je PCR inhibirana.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NEVAŽEĆE (INVALID) — Prisustvo ili odsustvo <i>Staphylococcus aureus</i> DNK ne može biti određeno. • SPC NEUSPEŠNO (SPC-FAIL) — SPC ciljani rezultat je negativan, a SPC Ct nije u važećem opsegu i krajnja tačka je ispod minimalnog podešavanja. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
GREŠKA (ERROR)	<p>Prisustvo ili odsustvo MRSA/SA ciljanih DNK sekvenci ne može biti određeno, ponovite test u skladu sa uputstvima u odeljku u nastavku. Provera kontrole probe je neuspešna a razlog je verovatno nepravilno napunjena reakciona epruveta, problem u integritetu probe, ili su prekoračena maksimalna ograničenja za pritisak.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SA — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SPC — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provera probe — NEUSPEŠNO* (FAIL); jedan ili više rezultata provere probe je neuspešan. <p>* Ako je provera probe uspešna, greška je nastala usled kvara komponente sistema.</p>
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	<p>Prisustvo ili odsustvo MRSA/SA ciljanih DNK sekvenci ne može biti određeno, ponovite test u skladu sa uputstvima u odeljku u nastavku. Prikupljeno je nedovoljno podataka za proizvodnju rezultata testa. Na primer, ovo se može dogoditi ako je operater zaustavio test dok je on bio u toku.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SA — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SPC — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provera probe – NP (nije primenjivo) (NA (not applicable))



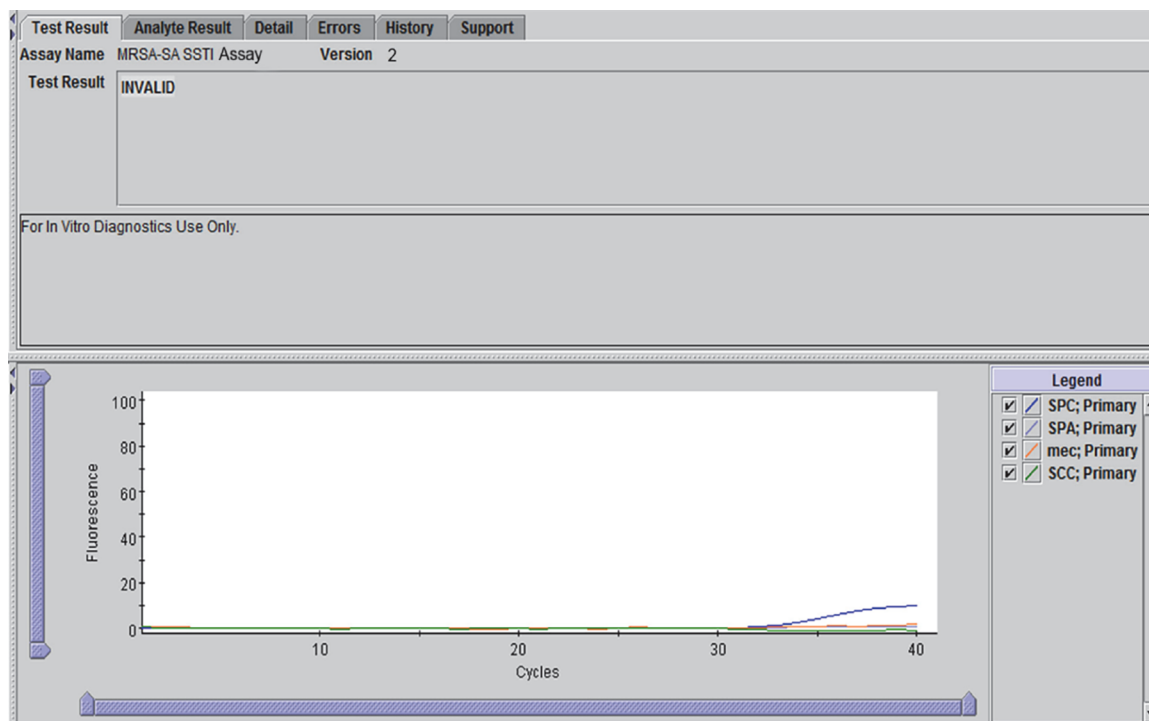
Slika 2. Primer rezultata Pozitivan na MRSA/Pozitivan na SA



Slika 3. Primer rezultata Negativan na MRSA/Pozitivan na SA



Slika 4. Primer rezultata Negativan na MRSA/Negativan na SA



Slika 5. Primer nevažjećeg rezultata

17 Razlozi za ponavljanje analize

17.1 Razlozi za ponavljanje testa

Ponovite test pomoću nove patrone (nemojte ponovo koristiti patronu) i novih reagenasa. Obavite postupak ponovnog testiranja u roku od 3 sata od neodređenog rezultata.

- R **NEVAŽEĆI (INVALID)** ezultat ukazuje na neuspeh SPC kontrole. Uzorak nije pravilno obrađen ili je PCR inhibiran.
- R **GREŠKA (ERROR)** rezultat ukazuje na to da je kontrola provere probe neuspešna i da je test obustavljen, moguće usled nepravilno postavljene reakcione epruvete, ili je detektovan problem sa integritetom reagensa probe, ili jer su prekoračena maksimalna ograničenja za pritisak.
- A **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** ukazuje da nije prikupljeno dovoljno podataka. Na primer, operater je zaustavio test dok je on bio u toku.
- Ako performanse spoljne QC ne budu onakve kakve se očekuju, ponovite test spoljne kontrole i/ili se obratite kompaniji Cepheid za pomoć.

17.2 Postupak ponovnog testiranja

Ponovite test pomoću nove patrone (nemojte ponovo koristiti patronu) i nove bočice sa reagensom za eluciju.

Da biste izveli ponovno testiranje u roku od 3 sata od dobijanja neodređenog rezultata*:

1. Prenesite preostali sadržaj iz komore za uzorke u novi reagens za eluciju pomoću jednokratne pipete za prenos.
2. Promešajte u vorteks mešalici i dodajte celokupan sadržaj reagensa za eluciju u komoru za uzorke u novu MRSA/SA SSTI test patronu.
3. Zatvorite poklopac i započnite novi test.

* Ako se ponovno testiranje ne može obaviti u roku od 3 sata, koristite novi uzorak.

18 Ograničenja

- Performanse Xpert MRSA/SA SSTI testa potvrđene su samo pomoću postupaka predviđenih u ovom uputstvu za korisnika. Modifikacije ovih postupaka mogu izmeniti performanse testa. Rezultate Xpert MRSA/SA SSTI testa treba tumačiti zajedno sa ostalim laboratorijskim i kliničkim podacima dostupnim lekaru.
- Xpert MRSA/SA SSTI test može detektovati MRSA /ili SA DNK iz nevidljivih mikroorganizama. Verovatnoća da se ovo dogodi se povećava za pacijente na antibioticima. U ključnoj kliničkoj studiji stopa lažno pozitivnih (u odnosu na kulturu) u detekciji SA kod pacijenata koji koriste antibiotike, u okviru od 3 nedelje pre Xpert MRSA/SA testiranja, bila je 13,8%. Stopa lažno pozitivnih (u odnosu na kulturu) u detekciji MRSA kod pacijenata koji koriste antibiotike, u okviru od 3 nedelje pre Xpert MRSA/SA testiranja, bila je 9,5%.
- Pozitivan rezultat testa ne ukazuje nužno na prisustvo vijabilnih mikroorganizama. Međutim, pretpostavlja se prisustvo MRSA ili SA.
- Testiranje Xpert MRSA/SA SSTI testom treba koristiti kao dodatak drugim dostupnim metodama.
- Pogrešni rezultati testa se mogu javiti usled nepravilnog prikupljanja uzorka; nepoštovanja preporučenog načina za prikupljanje uzorka, rukovanja i postupaka čuvanja; usled tehničke greške; zamene uzoraka; ili usled niskog broja mikroorganizama u uzorku, koje test detektuje. Da bi se izbegli pogrešni rezultati, neophodno je poštovanje uputstava u ovom prilogu.
- Zbog toga što detekcija MRSA i SA zavisi od broja mikroorganizama prisutnih u uzorku, pouzdani rezultati zavise od pravilnog prikupljanja uzorka, rukovanja i čuvanja.
- Mutacije ili polimorfizam u regionima vezivanja prajmera ili probe mogu uticati na detekciju novih ili nepoznatih MRSA varijanti, što može dovesti do lažno negativnog rezultata.
- U uzorcima koji sadrže i MRSA i SA, Xpert MRSA/SA SSTI test možda neće detektovati meticilin-rezistentne SA mikroorganizme. (U ključnom kliničkom ispitivanju, Xpert MRSA/SA SSTI test nije uspeo da detektuje 2 od 5 MRSA uzorka sa pozitivnim kulturama u situacijama sa dokumentovanim MRSA/SA mešovitim infekcijama).
- U mešovitoj kulturi, analitička LoD za MRSA je varijabilna kad su prisutne izuzetno visoke SA koncentracije. Konkurencija iz SA je opservirana pri MRSA:SA odnosu od 1:1x10⁶. U kliničkim studijama, 5 od 246 MRSA pozitivnih kultura je imalo mešovite infekcije MRSA i SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifikovao je 3 od 5 mešovitim infekcija kao MRSA pozitivno i 2 od 5 kao SA pozitivno/MRSA negativno.
- Inhibicija MRSA/SA SSTI testa opservirana je kod sledećih supstanci: StaphA +Septic (5% t/z), hidrokortizon (5% t/z) i antibakterijsko sredstvo za dezinfekciju ruku (5% t/z).

- Uzorci koji sadrže leguru žive i hroma ne mogu se koristiti zbog njihove fluorescentne prirode.
- Xpert MRSA/SA SSTI test će generisati lažno pozitivan MRSA rezultat kad se testira SSTI uzorak sa mešovitom infekcijom, koji sadrži i meticilin-rezistentnu, koagulaza negativnu bakteriju *Staphylococcus* (MRCNS) i praznu kasetu meticilin-senzitivnog *Staphylococcus aureus* (SA).
- Zbog faktora razblaženja povezanog sa postupkom ponovnog testiranja, moguće je da MRSA ili SA pozitivni uzorci budu veoma blizu granice ili na granici detekcije (LoD) Xpert MRSA/SA SSTI testa, što može dovesti do lažno negativnog rezultata nakon ponovnog testiranja.

19 Ometajuće supstance

U istraživačkoj studiji za Xpert MRSA/SA SSTI test, za 428 od 848 uzoraka je opservirano da sadrže krv, a za 404 je opservirano da sadrže druge nespecifične supstance, koje bi potencijalno mogle da ometaju analizu (imajte u vidu da su neki uzorci sadržali više od jednog tipa potencijalnog konkomitanta). Fišerov (Fisher) egzaktni test koji je sproveden na podacima generisanim iz briseva sa i bez ovih potencijalno ometajućih supstanci, demonstrirao je da njihovo prisustvo nije uticalo na performanse testa.

U nekliničkoj studiji, potencijalne ometajuće supstance koje mogu biti prisutne u kliničkim uzorcima inficirane kože i mekog tkiva, procenjene su direktno u odnosu na performanse Xpert MRSA/SA SSTI testa. Potencijalno ometajuće supstance u infekcijama kože i mekog tkiva mogu uključivati, ali bez ograničenja na: krv, gnoj, plazmu, topikalne masti (antibiotske/antiseptične/za olakšanje bolova), agense za debridman i tinkture. Ove supstance su navedene u Tabela 2 i Tabela 3 sa prikazanim testiranim aktivnim sastojcima i koncentracijama. Inhibicija MRSA/SA SSTI testa opservirana je kod sledećih supstanci: Staph antiseptic (5% t/z), hidrokortizon (5% t/z) i antibakterijsko sredstvo za dezinfekciju ruku (5% t/z).

Uzorci koji sadrže leguru žive i hroma ne mogu se koristiti zbog njihove fluorescentne prirode.

Tabela 2. Testirane potencijalno ometajuće SSTI supstance

Supstanca	Aktivni sastojak	% testiranih
TET pufer	Kontrola	Kontrola
Puferski omotač (surogat rane)	WBC (1,5e9/ml)	50% (z/z)
Puna krv (bez MRSA/SA)	N/A	50% (z/z)
Plazma	N/A	50% (z/z)
Neosporin	400 jedinica bacitracin 5000 jedinica polimiksin B 3,5 mg neomicin	1% i 5% (t/z)
StaphA ⁺ Septic	0,2% benzetonijum-hlorid, 2,5% lidokain HCl	1% i 5% (t/z)
Hidrokortizon	1% hidrokortizon	1% i 5% (t/z)
Boil-Ease	20% benzokain	1% i 5% (t/z)
Tinktura joda	2% jod	50% (z/z)

Tabela 3. Testirane potencijalno ometajuće SSTI supstance

Supstanca	Aktivni sastojak	% testiranih
TET pufer (kontrola)	Kontrola	Kontrola
Mupirocin	0,2% benzetonijum-hlorid, 2,5% lidokain HCl	5% (t/z)
Puna krv (bez MRSA/SA)	N/A	50% (z/z)
Fiziološki rastvor	0,65% natrijum-hlorid	50% (z/z)

Supstanca	Aktivni sastojak	% testiranih
Antibakterijsko sredstvo za dezinfekciju ruku	62% etil alkohol	1% i 5% (t/z)
70% izopropil alkohol	70% izopropil alkohol	50% (z/z)

20 Očekivane vrednosti

U Xpert MRSA/SA SSTI kliničku studiju, uključeno je ukupno 848 SSTI uzoraka iz četiri velike bolnice širom Sjedinjenih Država. Broj i procenat pozitivnih slučajeva pomoću metode referentne kulture, izračunato po starosnoj grupi, prikazani su u Tabela 4.

Tabela 4. Opservirana prevalencija MRSA i SA pomoću kulture

Starosna grupa	Ukupan broj	MRSA po kulturi		SA po kulturi	
		Broj pozitivnih	Opservirana prevalencija	Broj pozitivnih	Opservirana prevalencija
Starost manje od 3	34	11	32,4%	21	61,8%
Starost od 3 do 18	100	25	25,0%	55	55,0%
Starost od 19 do 65	614	188	30,6%	300	48,9%
Starost 66 i više	100	22	22,0%	35	35,0%

21 Karakteristike performansi

21.1 Kliničke performanse

Karakteristike performansi Xpert MRSA/SA SSTI testa određene su u multicentričnoj prospektivnoj istraživačkoj studiji u četiri ustanove u SAD-u, poređenjem Xpert MRSA/SA SSTI testa sa referentnom kulturom. Ispitanici su bili pojedinci čija je rutinska nega zahtevala prikupljanje brisa sa inficirane kože i mekog tkiva pacijenta za kulturu.

Od svakog pacijenta je prikupljeno po dva brisa. Jedan bris je testiran pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa u ustanovi uključenoj u studiji, a drugi bris je testiran standardnom metodom ustanove, dok je preostali uzorak slat u centralnu laboratoriju radi referentnog testiranja kulture.

U centralnoj laboratoriji, uzorak je preko noći obogaćen sojinim bujonom triptikaze sa 6,5% NaCl. Zatim je sojin bujon triptikaze prenet na pločice sa cefoksitinom (za MRSA) i bez cefoksitina (za SA). Bilo da je jedna pločica, ili da su obe MRSA ili SA pločice pokazale pretpostavljene kolonije *S. aureus*, kolonije su podkultivisane na pločice sa krvnim agarom. Potvrda pretpostavljenih pozitivnih kolonija, obavljena je pomoću testa katalaze, koagulaze i bojenejm po Gramu. *MecA*-posredovana rezistencija testirana je pomoću difuzije diska, korišćenjem cefoksitin diska od 30 µg i presekom od 21/22 mm. Ako su kulture i MRSA i SA pločica određene kao negativne, pravljen je podkultura arhiviranog sojinog bujona triptikaze sa 6,5% NaCl na krvnom agaru, a nakon toga je rađena obrada za SA/MRSA, kao što je prethodno opisano.

Preformanse Xpert MRSA/SA SSTI testa izračunate su u odnosu na referentne rezultate kulture.

21.2 Sveukupni rezultati

Testirano je ukupno 848 uzoraka na MRSA i SA pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa i kulture.

Među 848 slučajeva u podobnom skupu podataka, upotreba antibiotika u okviru od 3 nedelje pre prikupljanja uzorka je prijavljena za 207 ispitanika, a nekorišćenje antibiotika je potvrđeno za 441 ispitanika; za 200 slučajeva, status antibiotika nije bio poznat. Statistički značajno smanjenje u stopi pozitivnosti za SA u odnosu na rezultate kultura, opservirano je kad su korišćeni antibiotici ($p=0,007$); ovaj fenomen je takođe prijavljen u literaturi.^{10, 11, 12, 13, 14} Stopa pozitivnosti za

MRSA kulturu je takođe smanjena, iako u manjem obimu ($p=0,022$). Smanjenje pozitivnosti nije opservirano u okviru Xpert MRSA/SA SSTI testa kad su korišćeni antibiotici, niti je opservirana bilo kakva inhibicija u analizi u prisustvu topiklanih antibiotika (pogledajte Odeljak 20 Ometajuće supstance). Smanjenje stope pozitivnosti u kulturi za MRSA i SA u prisustvu antibiotika dovelo je do većih lažno pozitivnih slučajeva od očekivanih, što je opservirano pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa.

Pet od 246 MRSA pozitivnih kultura imalo je mešovite infekcije MRSA i SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifikovao je 3 od 5 mešovitih infekcija kao MRSA pozitivno i 2 od 5 kao SA pozitivno/MRSA negativno.

Performanse Xpert MRSA/SA SSTI testa sumirane su u Tabela 5 do Tabela 7.

Tabela 5. MRSA/SA performanse kod ispitanika bez upotrebe antibiotika (u okviru 3 nedelje od prikupljanja uzorka) naspram referentne kulture

	Kultura			Ukupno
	MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Bez rasta	
MRSA+	137 ^a	2	6	145
SA+/MRSA-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Ukupno	146	85	210	441

^a 1 od 137 bilo je sa mešovitom infekcijom MRSA i SA.

^b 2 od 3 bilo je sa mešovitim infekcijama MRSA i SA.

Procenat pozitivnog poklapanja (MRSA+) = 93,8; Interval poverenja od 95% = 88,6-97,1

Procenat negativnog poklapanja (MRSA+) = 97,3; Interval poverenja od 95% = 94,7-98,8

Procenat pozitivnog poklapanja (SA+/MRSA+) = 95,7; Interval poverenja od 95% = 92,2-97,9

Procenat negativnog poklapanja (SA+/MRSA+) = 89,5; Interval poverenja od 95% = 84,6-93,3

Među ispitanicima bez upotrebe antibiotika u okviru 3 nedelje pre prikupljanja uzorka, Xpert MRSA/SA SSTI test identifikovao je 93,8% uzoraka pozitivnih na MRSA i 97,3% uzorka negativnih na MRSA u odnosu na metodu referentne kulture, a 95,7% uzorka pozitivnih na SA i 89,5% uzoraka negativnih na SA u odnosu na metodu referentne kulture.

Među ovim ispitanicima bez upotrebe antibiotika, 96,8% (427/441) bilo je uspešno pri prvom pokušaju pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. Preostalih 14 je pri prvom pokušaju dalo neodređene rezultate (6 **NEVAŽEĆI (INVALID)**, 7 **GREŠKA (ERROR)** i 1 **NEMA REZULTATA (NO RESULT)**). Od 14 neodređenih pri prvom pokušaju, svih dalo je rezultat pri drugom pokušaju.

Tabela 6. MRSA/SA performanse kod ispitanika sa nepoznatom upotrebom antibiotika (u okviru 3 nedelje od prikupljanja uzorka) naspram referentne kulture

		Kultura			Ukupno
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Bez rasta	
Xpert	MRSA+	47 ^a	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Ukupno	50	47	103	200

^a 2 od 47 bilo je sa mešovitim infekcijama MRSA i SA

Procenat pozitivnog poklapanja (MRSA+) = 94,0; Interval poverenja od 95% = 83,5-98,7

Procenat negativnog poklapanja (MRSA+) = 97,3; Interval poverenja od 95% = 93,3-99,3

Procenat pozitivnog poklapanja (SA+/MRSA+) = 96,9; Interval poverenja od 95% = 91,2-99,4

Procenat negativnog poklapanja (SA+/MRSA+) = 88,3; Interval poverenja od 95% = 80,5-93,8

Kada nije bilo poznato da li su ispitanici uzimali antibiotike u okviru 3 nedelje pre prikupljanja uzorka, Xpert MRSA/SA SSTI test identifikovao je 94,0% uzoraka pozitivnih na MRSA i 97,3% uzorka negativnih na MRSA u odnosu na metodu referentne kulture, a 96,9% uzorka pozitivnih na SA i 88,3% uzoraka negativnih na SA u odnosu na metodu referentne kulture.

Među ovim ispitanicima sa nepoznatom upotrebom antibiotika, 97,0% (194/200) bilo je uspešno pri prvom pokušaju pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. Preostalih 6 je pri prvom pokušaju dalo neodređene rezultate (2 **NEVAŽEĆI (INVALID)**, 3 **GREŠKA (ERROR)** i 1 **NEMA REZULTATA (NO RESULT)**). Od 6 neodređenih pri prvom pokušaju, svih dalo je rezultat pri drugom pokušaju.

Tabela 7. MRSA/SA performanse kod ispitanika sa poznatom upotrebom antibiotika (u okviru 3 nedelje od prikupljanja uzorka) naspram referentne kulture

		Kultura			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Bez rasta	Ukupno
Xpert	MRSA+	44	2	10	56
	SA+/MRSA-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Ukupno	50	34	123	207

Procenat pozitivnog poklapanja (MRSA+) = 88,0; Interval poverenja od 95% = 75,7-95,5

Procenat negativnog poklapanja (MRSA+) = 92,4; Interval poverenja od 95% = 87,0-96,0

Procenat pozitivnog poklapanja (SA+/MRSA+) = 95,2; Interval poverenja od 95% = 88,3-98,7

Procenat negativnog poklapanja (SA+/MRSA+) = 76,4; Interval poverenja od 95% = 67,9-83,6

Među ispitanicima sa poznatom upotrebom antibiotika u okviru 3 nedelje pre prikupljanja uzorka, Xpert MRSA/SA SSTI test identifikovao je 88,0% uzoraka pozitivnih na MRSA i 92,4% uzoraka negativnih na MRSA u odnosu na metodu referentne kulture, a 95,2% uzoraka pozitivnih na SA i 76,4% uzoraka negativnih na SA u odnosu na metodu referentne kulture.

Među ovim ispitanicima sa upotrebom antibiotika, 96,1% (199/207) bilo je uspešno pri prvom pokušaju pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. Preostalih 8 je pri prvom pokušaju dalo neodređene rezultate (5 **NEVAŽEĆI (INVALID)** i 3 **GREŠKA (ERROR)**). Od 8 neodređenih pri prvom pokušaju, svih dalo je rezultat pri drugom pokušaju.

21.3 Varijante prazne kasete

Da bi izolat bio identifikovan kao MRSA pozitivan pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa, test na *spa* mora biti pozitivan, kao i test na *mecA* i *SCCmec*. Izolat koji je pozitivan na *spa* i *SCCmec*, ali ne i na *mecA*, prijavljuje se kao SA jer je metilicilin-senzitivan. Do ove situacije može doći kad se udeo *SCCmec* elementa koji nosi *mecA* izuzme, ali krajevi ovog mobilnog elementa ostaju na mestu, što dovodi do pozitivnog *SCCmec* signala. Ovi izolati se ponekad nazivaju „varijante prazne kasete” i nisu neuobičajeni u kliničkom okruženju. Značaj ovih izolata je u tome što mogu potencijalno da zbune MRSA analizu koja direktno ne detektuje *mecA* gen. Xpert MRSA/SA SSTI test je osmišljen za tačnu identifikaciju ovih SA varijanti.

Među podobnim uzorcima uključenim u analize podataka koje su predstavljene u ovom izveštaju, ukupno 16 izolata se uklapa u profil prazne kasete, što dovodi do pozitivnih *spa* i *SCCmec* rezultata testova, ali bez *mecA* detekcije (Ct = 0) kako je prikazano u Tabela 8. Petnaest (15) od 16 izolata je potvrđeno kao MRSA stvarno negativno u odnosu na kulturu, a 14 od 16 izolata je potvrđeno kao SA zaista pozitivno u odnosu na kulturu. Jedan izolat je identifikovan kao MRSA pomoću kulture, a 2 izolata je bilo i MRSA i SA negativno pomoću kulture.

Tabela 8. MRSA/SA SSTI performanse naspram referentne kulture — Varijante prazne kasete

Ispitanik br.	Xpert rezultat	spa (Ct)	mecA (Ct)	SCCmec (Ct)	Kultura	XPert naspram kulture	
						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 Analitičke performanse

22.1 Studija analitičke specifičnosti unakrsne reaktivnosti

Sto pet (105) sojeva je prikupljeno, kvantifikovano i testirano pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. 98 kultura iz „Kolekcije američkog tipa kulture” (American Type Culture Collection, ATCC) i 7 sojeva iz „Mreže antimikrobne rezistencije na *Staphylococcus aureus*” (Network on Antimicrobial Resistance, NARSA), predstavljaju vrste koje se filogenetski odnose na *Staphylococcus aureus* ili one koje se potencijalno mogu naći u bolničkom okruženju.

Ovim su obuhvaćene i koagulaza-negativne stafilokoke osetljive na meticilin (29) i koagulaza-negativne stafilokoke rezistentne na meticilin (9). Mikroorganizmi koji su testirani, identifikovani su ili kao Gram pozitivni (74), Gram negativni (28), ili gljivice (3). Mikroorganizmi su dalje klasifikovani ili kao aerobni (95) ili anaerobni (10).

Dva (2) ili više replikata svakog izolata je testirano na 1,7-3,2 Mefarlandovih jedinica. U uslovima u kojima se obavljala studija, svi izolati su prijavljeni kao MRSA negativno i SA negativno; nijedan od izolata nije detektovan pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. Pozitivne i negativne kontrole su obuhvaćene studijom. Analitička specifičnost je bila 100%.

22.2 Procena BORSA sojeva

Testirano je sedam (7) dobro okarakterisanih *Staphylococcus aureus* (BORSA) sojeva na granici rezistencije na oksacilin, uključujući i jednu očiglednu „praznu kasetu” (pogledajte iznad). Meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus* je rezistentan na sve β-laktamske lekove preko alternativnog penicilin-vezujućeg proteina PBP2a kog kodira *mecA*¹⁵. BORSA sojevi su *mecA* negativni, ali prikazuju minimalnu inhibitornu koncentraciju (MIC) oksacilina ≥ 2 i ≤ 8 μg/ml. To je posebno dragoceno za razlikovanje MRSA od BORSA, kako bi se sprečila nepotrebna i neodgovarajuća upotreba vankomicina, kao i mere predostrožnosti izolacije koje nisu garantovane za pacijente inficirane β-laktamskim osetljivim sojem¹⁶.

U okviru uslova ove studije, svih 7 BORSA izolata (uključujući očigledan izolat „prazne kasete“) prijavljeno je kao MRSA negativno/SA pozitivno i pri visokim i pri niskim ćelijskim koncentracijama pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. Nijedan *mecA* signal nije prijavljen. Ovi rezultati pokazuju da će BORSA soj biti tačno identifikovan kao MRSA negativno/SA pozitivno i neće prijaviti lažno pozitivan MRSA rezultat testa kada se koristi Xpert MRSA/SA SSTI test.

22.3 Analitička osetljivost

Studije o granici detekcije

Obavljene su studije kako bi se odredili intervali poverenja od 95% za analitičku granicu detekcije (LoD) za ćelije *Staphylococcus aureus* (SA) i ćelije *Staphylococcus aureus* koje su rezistentne na meticilin (MRSA), razblaženih u surogatu matriksa rane humanog porekla. Surogat matriksa rane sastojao se od koncentrata leukocita (WBC) pripremljenog iz pune krvi pomoću centrifugiranja. Matriks je takođe sadržao eritrocite (RBC) i plazmu, kao i zanemarljivu količinu antikoagulansa (CPD ili CPDA-1). Granica detekcije je definisana kao najniži broj jedinica formiranja kolonija (CFU) po uzorku koji se može ponovljivo razlikovati od negativnih uzoraka sa 95% pouzdanosti, ili najniža koncentracija pri kojoj je 19 od 20 replikata bilo pozitivno.

Za MRSA, replikati od 20 su procenjeni pri svakoj testiranoj koncentraciji MRSA (CFU/štapčić) za 6 pojedinačnih izolata koji su predstavljali SCC*mec* tipove I, II, III, IVa, V i VI. Karakterizacijom pomoću gel elektroforeze pulsog polja (PFGE), predstavljeni su soj USA100 koji je najčešći stečeni soj u zdravstvenim ustanovama i soj USA400, koji je jedan od najčešćih sojeva, stečen u vanbolničkim ustanovama.

Za SA, replikati od 20 su procenjeni pri svakoj SA koncentraciji (CFU/štapčić) za 3 pojedinačna SA izolata. Predstavljeni su USA tipovi USA900 i USA1200.

Parametri procene i intervali poverenja određeni su pomoću logističke regresije sa podacima (broj pozitivnih rezultata po broju replikata na svakom nivou) u opsegu testiranih CFU/štapčića. Intervali poverenja određeni su pomoću procena maksimalne verovatnoće na parametrima logističkog modela pomoću velikog matriksa varijanse-kovarijanse uzorka. Procena tačke LoD i intervali poverenja veći ili manji od 95% za svaki SA i svaki testirani MRSA SCC*mec* tip, sumirani su u Tabela 9 i Tabela 10.

Tabela 9. Intervali poverenja od 95% za analitičku LoD – SA

SA ID soja	PFGE	LoD (CFU/štapčić)	CI manji od 95I	CI veći od 95%
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	nepoznato	123	97	188

Tabela 10. Intervali poverenja od 95% za analitičku LoD – MRSA

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

Rezultati ove studije ukazuju na to da će Xpert MRSA/SA SSTI test proizvesti pozitivan SA rezultat u 95% vremena sa poverenjem od 95% za bris rane koji sadrži 150 CFU i pozitivan MRSA rezultata u 95% vremena sa poverenjem od 95% za bris rane koji sadrži 300 CFU.

Sto dvadeset jedan (121) dodatni soj bakterije *Staphylococcus aureus* je testiran pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. Kulture preko noći uzgajane su u infuzionom medijumu mozak-srce (BHI) i prilagođene su na 0,5 Mefarlandovih (McFarland) jedinica. Svi sojevi su testirani u triplikatima pomoću 100 µl kultura koje su dalje razblažene 100 hiljada do milion puta.

MRSA (78) i SA (43) sojevi izabrani su kao predstavnici opsega genetičke raznolikosti, pronađene u vrstama *Staphylococcus aureus* na osnovu filogenetske strukture. Izbori predstavljaju primarne linije sa naglaskom na specifične komplekse klonova u okviru kojih je predominantno opserviran MRSA. Obuhvaćene su linije koje sadrže MRSA i SA, kao i one koje sadrže samo SA.

Xpert MRSA/SA SSTI test je tačno identifikovao 116 od 121 soja. 5 neskladnih je okarakterisano pomoću testa katalaze, koagulaze i bojenjem po Gramu. *MecA*-posredovana rezistencija na oksacilin, procenjena je pomoću difuzije diska, korišćenjem cefoksitin diska od 30 µg i presekom prečnika od 21/22 mm.

Tri (3) od 78 MRSA sojeva je prijavljeno kao MRSA negativno/SA pozitivno pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. Dalja karakterizacija ukazuje na to da ovi sojevi nisu rezistentni i da su tačno prijavljeni kao MRSA negativni; SA pozitivni.

Dva (2) od 43 MRSA sojeva je prijavljeno kao MRSA pozitivno/SA pozitivno pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. Dalja karakterizacija ukazuje na to da su ovi sojevi rezistentni i da su tačno prijavljeni kao MRSA pozitivni; SA pozitivni.

Svaki od 12 poznatih USA300 izolata je tačno prijavljen kako MRSA pozitivno i SA pozitivno, kao što je i očekivano.

23 Procena varijanti prazne kasete

Dvadeset dva (22) *Staphylococcus aureus* izolata koja su identifikovana kao „varijante prazne kasete”, testirano je pomoću Xpert MRSA/SA SSTI testa. Kulture preko noći prilagođene su na 0,5 Mekfaralndovih jedinica. Svi sojevi su testirani iz kultura koje su dalje razblažene 100 (visoko) i 100 hiljada (nisko) puta.

Xpert MRSA/SA SSTI test je tačno identifikovao sva 22 izolata kao MRSA negativno i SA pozitivno. Za obe testirane čelijske koncentracije, prijavljene su samo Ct vrednosti za *spa* i *SCCmec* ciljeve. Nijedna *mecA* Ct vrednost nije prijavljena.

24 Studija prenošenja kontaminacije

Sprovedena je studija da bi se demonstriralo da GeneXpert samostalne patrone za jednokratnu upotrebu sprečavaju prenos kontaminacije u ciklusima negativnih uzoraka nakon velikog broja pozitivnih uzoraka u istom GeneXpert modulu. Studija se sastojala od negativnog uzorka obrađenog u istom GeneXpert modulu, nakon visoko pozitivnog MRSA uzorka (približno 10⁷ CFU/test). Ova je ponovljeno 20 puta između 2 GeneXpert modula u ukupno 42 ciklusa. Nije bilo dokaza o bilo kakvom prenosu kontaminacije. Svih 21 pozitivnih uzoraka je tačno prijavljeno kao MRSA pozitivno/SA pozitivno. Svih 21 negativnih uzoraka je tačno prijavljeno kao MRSA negativno/SA negativno.

25 Reproducibilnost

Testiran je panel od 10 uzoraka sa različitim koncentracijama SA, MRSA i *Staphylococcus epidermidis* (negativno) u duplikatu u toku 10 različitih dana na svakoj od tri lokacije (10 uzoraka x 2 puta/dan x 10 dana x 3 lokacije). Jedna serija kompleta Xpert MRSA/SA testa je korišćena na svakoj od 3 test lokacije. Xpert MRSA/SA testovi su izvedeni u skladu sa procedurom za Xpert MRSA/SA SSTI test.

Tabela 11. Sažetak rezultata reproducibilnosti

ID uzorka	Lokacija 1	Lokacija 2	Lokacija 3	Ukupno poklapanje
Neg. (MSSE)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
GSA visoko neg.	100% (20/20)	100% (20/20)	90% (18/20)	96,7% (58/60)
SA nisko poz.	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	98,3% (59/60)
MRSA1 visoko neg.	100% (20/20)	90% (18/20)	100% (20/20)	96,6% (58/60)
MRSA1 nisko poz.	100% (20/20)	100% (20/20)	90% (18/20)	96,6% (58/60)
MRSA2 visoko neg.	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA2 nisko poz.	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96,6% (58/60)

ID uzorka	Lokacija 1	Lokacija 2	Lokacija 3	Ukupno poklapanje
% ukupnog poklapanja po lokaciji	100% (140/140)	97,9% (137/140)	95,7% (134/140)	97,9% (411/420)

Tabela 12. Sažetak rezultata Ct vrednosti po nivou uzorka i probi

Nivo	Medijana	Std. dev.	%CV
SPC			
MRSA1 visoko neg.	34,52	0,82	2,36
MRSA2 visoko neg.	34,46	0,85	2,46
Neg. (MSSE)	34,44	0,90	2,62
GSA visoko neg.	34,38	0,92	2,66
spa			
Nivo	Medijana	Std. dev.	%CV
MRSA1 nisko poz.	32,96	0,8	2,44
MRSA2 nisko poz.	31,05	0,69	2,21
SA nisko poz.	33,91	0,8	2,35
mecA			
Nivo	Medijana	Std. dev.	%CV
MRSA1 nisko poz.	33,25	0,80	2,40
MRSA2 nisko poz.	31,50	0,68	2,16
SCCmec			
Nivo	Medijana	Std. dev.	%CV
MRSA1 nisko poz.	34,19	0,90	2,63
MRSA2 nisko poz.	33,13	0,68	2,05

Sekundarna studija reproducibilnosti je izvedena pomoću panela od 4 uzorka (SA: 10X LoD, MRSA1: 10X LoD, MRSA2: 10X LoD, i negativna kontrola: *Staphylococcus epidermidis*). Paneli su testirani u duplikatu u toku 10 različitih dana na svakoj od tri lokacije (4 uzorka x 2 puta/dan x 10 dana x 3 lokacije). Jedna serija kompleta Xpert MRSA/SA SSTI testa je korišćena na svakoj od 3 test lokacije. Xpert MRSA/SA SSTI test je izveden u skladu sa procedurom za Xpert MRSA/SA SSTI test. Tačni rezultati su pribavljeni za 239 od 240 testova.

Tabela 13. Sažetak rezultata reproducibilnosti

ID uzorka	Lokacija 1	Lokacija 2	Lokacija 3	Ukupno poklapanje
Neg. (MSSE)	100 (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
SA umereno poz. ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA1 umereno poz. ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA2 umereno poz. ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	98,3% (59/60)

ID uzorka	Lokacija 1	Lokacija 2	Lokacija 3	Ukupno poklapanje
% ukupnog poklapanja po lokaciji	100% (80/80)	100% (80/80)	98,8% (79/80)	99,6% (239/240)

^a 10X LoD

Tabela 14. Sažetak rezultata Ct vrednosti po nivou uzorka i probi

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

26 Reference

- 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. Strane 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.

8. 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.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (pogledati poslednje izdanje).
10. Ewig S, Schlochtermeier 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.
11. 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, 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.
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. UREDBA (EO) br. 1272/2008 EVROPSKOG PARLAMENTA I SAVETA od 16. decembra 2008. o klasifikacionom označavanju i pakovanju supstanci i smeša koje menja i ukida. Lista izjava o predostrožnosti, Direktiva 67/548/EEC i 1999/EC (izmene i dopune Uredbi (EO) Br. 1907/2006).
18. Standardi zaštite na radu i zdravlja, Prenos informacija o opasnostima, toksičnim i opasnim supstancama (26. marta 2012.) (29 C.F.R., t. 1910, podtačka Z).

27 Lokacije sedišta kompanije Cepheid

Sedišta kompanije

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sedišta u Evropi

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

28 Tehnička pomoć

Prikupite sledeće informacije pre nego što se obratite tehničkoj podršci kompanije Cepheid:

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

Sjedinjene Države




Telefon: + 1 888 838 3222
Adresa e-pošte: techsupport@cepheid.com















Francuska

Telefon: + 33 563 825 319
Adresa e-pošte: support@cepheideurope.com

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

29 Tabela simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	<i>In vitro</i> dijagnostičko medicinsko sredstvo
	Ne koristiti ponovo

Simbol	Značenje
	Serijski kod
	Pogledajte uputstvo za upotrebu
	Oprez
	Proizvođač
	Zemlja proizvodnje
	Sadrži dovoljno za n testova
	Kontrola
	Rok upotrebe
	CE oznaka – Evropska usklađenost
	Ograničenje temperature
	Upozorenje
	Biološki rizici
	Ovlašćeni predstavnik u Švajcarskoj
	Uvoznik



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 Istorija revizija

Odeljak	Opis promene
Tabela simbola	Dodati simboli za CH REP i uvoznika i definicije u tabeli simbola. Dodate informacije o CH REP i uvozniku sa adresom u Švajcarskoj.
Istorija revizija	Tabela sa istorijom revizija je ažurirana.