

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Navodila za uporabo

CE **IVD**

Blagovna znamka, patenti in izjave o avtorskih pravicah

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[®], logotip Cepheid, GeneXpert[®] in Xpert[®] so blagovne znamke družbe Cepheid, registrirane v ZDA in drugih državah.

Vse druge blagovne znamke so v lasti njihovih lastnikov.

NAKUP TEGA IZDELKA NA KUPCA PRENESE NEPRENOSLJIVO PRAVICO DO NJEGOVE UPORABE V SKLADU S TEMI NAVODILI ZA UPORABO. NA KUPCA SE NE PRENESE IZRECNO, IMPLICITNO ALI S PREKLJUŽIJO NOBENIH DRUGIH PRAVIC. POLEG TEGA SE Z NAKUPOM TEGA IZDELKA NE PRIDOBI PRAVIC ZA PREPRODAJO.

© 2019–2023 Cepheid.

Za opis sprememb glejte Razdelek 30, Zgodovina revizij.

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

Samo za *in vitro* diagnostično uporabo.

1 Lastniško ime

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2 Splošno ali običajno ime

Xpert MRSA/SA SSTI

3 Namen uporabe

Test za okužbo kože in mehkih tkiv z MRSA/SA Xpert[®] družbe Cepheid (test Xpert MRSA/SA SSTI), izveden na sistemu GeneXpert[®] DX, je kvalitativni *in vitro* diagnostični test, namenjen odkrivanju *Staphylococcus aureus* (SA) in proti meticilinu odpornemu *Staphylococcus aureus* (MRSA) iz brisov okužene kože in mehkih tkiv. Test uporablja za zaznavanje DNA MRSA/SA verižno reakcijo s polimerazo (PCR) v realnem času. Test Xpert MRSA/SA SSTI je indiciran za uporabo skupaj z drugimi laboratorijskimi testi, kot so mikrobiološke kulture, in kliničnimi podatki, ki so na voljo zdravniku, kot pomoč pri zaznavanju okužb kože in mehkih tkiv z MRSA/SA. Test Xpert MRSA/SA SSTI ni namenjen za spremljanje zdravljenja okužb z MRSA/SA. Potrebne so sočasne kulture za SA in MRSA za pridobitev organizmov za testiranje občutljivosti ali epidemiološko tipizacijo.

4 Povzetek in razlaga

Staphylococcus aureus (SA) je dobro dokumentiran človeški oportunistični patogen in pomemben nozokomialni patogen, ki povzroča vrsto bolezni. Nekatere bolezni vključujejo okužbe kože in mehkih tkiv, vključno s karbunkli in tvorji, ter pooperativne okužbe ran na različnih mestih. Kot nozokomialni patogen je *S. aureus* pomemben povzročitelj obolevnosti in umrljivosti. Okužbe s *S. aureus* so pogosto akutne in piogene in se lahko, če se ne zdravijo, razširijo na okoliško tkivo ali z bakteriemijo na metastatska mesta (vključno z drugimi organi). Nekatere od resnejših okužb, ki jih povzroča *S. aureus*, so bakteriemija, pljučnica, osteomielitis, akutni endokarditis, sindrom toksičnega šoka, zastrupitev s hrano, miokarditis, perikarditis, cerebritis, meningitis, horioamnionitis, sindrom luščenja kože in abscesi mišic, urogenitalnega trakta, osrednjega živčevja in različnih notranjih organov.¹

V zgodnjih petdesetih letih prejšnjega stoletja sta privzemanje in širjenje plazmidov, ki proizvajajo betalaktamazo, preprečila učinkovitost penicilina pri zdravljenju okužb s *S. aureus*. Leta 1959 je bil uveden meticilin, sintetični penicilin. Vendar pa so do leta 1960 identificirali seve *S. aureus*, odporne proti meticilinu. Ugotovili so, da je to rezultat *S. aureus* privzema gena *mecA*. Danes je v ZDA MRSA odgovoren za približno 25 % nozokomialnih okužb in število primerov MRSA domačega okolja narašča, kar povzroča znatno obolevnost in smrtnost. Poročali so o 33-odstotni smrtnosti zaradi bakteriemije, ki jo je mogoče pripisati MRSA, in 16-odstotni smrtnosti pri tisti, ki jo pozročijo *S. aureus*, občutljiv na meticilin (SA). Skrbi tudi naraščanje stroškov zaradi okužb z MRSA. Pri poskusih omejevanja širjenja teh okužb se v zdravstvenih ustanovah razvijajo in izvajajo strategije in politike nadzora. Večina bolnišničnih programov za nadzor okužb se v glavnem osredotoča na nadzor nad MRSA. Trenutno je standardna metoda za zaznavanje MRSA in SA kultura, ki je zelo težavna in lahko zahteva več dni za končni rezultat.^{2,3,4,5,6,7}

5 Načelo postopka

GeneXpert sistemi avtomatizirajo in vključujejo čiščenje vzorcev, amplifikacijo nukleinske kisline in zaznavanje tarčnega zaporedja v enostavnih ali kompleksnih vzorcih s pomočjo testov PCR v realnem času. sisteme sestavljajo instrument, osebni računalnik in vnaprej naložena programska oprema za izvajanje testov in ogledovanje rezultatov. sistemi uporabljajo vložke za enkratno uporabo, ki držijo reagente za reakcijo PCR in v katerih potekajo postopki PCR. Ker so vložki avtonomni, je navzkrižno onesnaženje med vzorci minimizirano. Za celoten opis sistemov glejte ustrezen *priročnik za uporabo sistema GeneXpert Dx* oziroma priročnik za uporabo sistema *GeneXpert Infinity*.

Test Xpert MRSA/SA SSTI vključuje reagente za zaznavanje MRSA in SA i tudi kontrolo za obdelavo vzorca (SPC), ki preverja ustrezno obdelavo tarčnih bakterij in spremlja prisotnost inhibitorja (-ev) med reakcijo PCR. SPC zagotavlja tudi, da so pogoji reakcije (temperatura in čas) ustrezni za reakcijo amplifikacije in da reagenti za PCR delujejo. Kontrola za preverjanje sonde (Probe Check Control - PCC) je namenjena preverjanju rehidracije reagenta, polnjenju epruvete PCR v vložku, celovitosti vložka in stabilnosti barve.

Začetniki in sonde v testu Xpert MRSA/SA SSTI zaznajo lastniška zaporedja stafilokoknega proteina A (*spa*), gen za odpornost proti meticilinu (*mecA*) in stafilokokni kasetni kromosom (*SCCmec*), vstavljen na kromosomsko mesto *attB SA*.

6 Reagenti in instrumenti

6.1 Material na voljo

Komplet Xpert MRSA/SA SSTI vsebuje dovolj reagentov za obdelavo 10 vzorcev ali kontrol kakovosti. Komplet vsebuje naslednje:

Vložke Xpert MRSA/SA SSTI z vgrajenimi reakcijskimi epruvetami	10
<ul style="list-style-type: none"> Zrno 1, zrno 2, in zrno 3 (liofilizirano) Reagent 1 Reagent 2 (natrijev hidroksid) 	<ul style="list-style-type: none"> 1 na vložek 3,0 ml na vložek 3,0 ml na vložek
Vrečka z Xpert MRSA/SA SSTI Elution Reagent Pouch	10 × 2.0 ml na vrečko
<ul style="list-style-type: none"> Elucijski reagent (gvanidinijev tiocianat) 	
CD	1 na komplet
<ul style="list-style-type: none"> Datoteka z opredelitvijo testa (Assay Definition File - ADF) Navodila za uvoz ADF v programsko opremo GX Navodila za uporabo (priložena pakiranju) 	

Opomba Varnostni listi (SDS), ki so na voljo na spletnem naslovu www.cepheid.com ali www.cepheidinternational.com v zavihku **PODPORA** (SUPPORT).

Opomba Goveji serumski albumin (BSA) v zrcnih v tem izdelku je bil izdelan in proizveden izključno iz goveje plazme, pridobljene v Združenih državah. Živali niso bile hranjene z beljakovinami prežvekovalcev ali drugih živali. Živali so bile testirane pred zakolom in po njem. Med obdelovanjem se material ni mešal z drugimi živalskimi materiali

6.2 Shranjevanje in uporaba

- Vložke testa Xpert MRSA/SA SSTI in reagente hranite pri 2–28 °C.
- Ne uporabljajte reagentov oziroma vložkov, ki jim je potekel rok uporabnosti.
- Vložka ne odpirajte, dokler niste pripravljeni na izvajanje testiranja.
- Ne uporabljajte reagentov, ki so postali motni ali so spremenili barvo.

7 Materiali, ki so potrebni, a niso dostavljeni

- Sistem instrumenta GeneXpert (kataloška številka je odvisna od konfiguracije): Instrument GeneXpert, računalnik z lastniško programsko opremo GeneXpert, različico 4.3 ali novejšo, palični bralnik črtnih kod in uporabniški priročnik
- Tiskalnik: Če potrebujete tiskalnik, stopite v stik z oddelkom za tehnično podporo družbe Cepheid, da se dogovorite za nakup priporočenega tiskalnika.
- Pripomoček za odvzem vzorca družbe Cepheid (900-0370) ali enakovreden družbe Copan
- Vibracijski mešalnik
- Pipete za prenos za enkratno uporabo
- Sterilna gaza


8 Materiali, ki so na voljo, a niso priloženi

KWIK-STIKs™ proizvajalca Microbiologics, kataloška št. 0158MRSA in kataloška št. 0360SA kot zunanji pozitivni kontroli in št. 0371MSSE (na meticilin občutljiv *Staphylococcus epidermidis*) kot zunanja negativna kontrola.

9 Opozorila in previdnostni ukrepi

- Z vsemi biološkimi vzorci, kar vključuje uporabljene vložke in reagente, ravnajte, kot če bi lahko prenašali kužne agense. Ker pogosto ni mogoče vedeti, kateri so lahko kužni, je treba vse biološke vzorce obravnavati s standardnimi previdnostnimi ukrepi. Smernice za ravnanje z vzorci so na voljo pri Centru za nadzor in preprečevanje bolezni⁸ v ZDA in na Inštitutu za klinične in laboratorijske standarde.⁹
- V mešani kulturi, ki vsebuje MRSA/SA in druge organizma (npr. gramnegativne bacile, kvasovke), so lahko rezultati lažno negativni ali spremenljivi, odvisno od koncentracije prisotnih MRSA/SA, posebej, če je koncentracija MRSA/SA blizu LoD testa.
- Upoštevajte varnostne postopke svoje ustanove za delo s kemikalijami in ravnanje z biološkimi vzorci.
- Test Xpert MRSA/SA SSTI lahko zazna dna MRSA in/ali SA iz neživih organizmov. Verjetnost, da se to zgodi, se poveča pri bolnikih, ki jemljejo antibiotike.
- Test Xpert MRSA/SA SSTI ne omogoča testnih rezultatov za antimikrobno občutljivost. Za kultiviranje in testiranje na antimikrobno občutljivost je potreben dodaten čas.
- Reagentov testa Xpert MRSA/SA SSTI ne nadomestite z drugimi reagenti.
- Ne odpirajte pokrovčka vložka testa Xpert MRSA/SA SSTI, razen ko dodajate vzorec in reagent oziroma ob ponovnem testiranju.
- Ne uporabljajte vložka, ki je padel ali se je pretresel, potem ko ste dodali vzorec in reagent.
- Ne uporabljajte vložka, ki ima poškodovano reakcijsko epruveto.
- Vsak vložek za enkratno uporabo testa Xpert MRSA/SA SSTI se uporabi za obdelavo enega vzorca. Uporabljenih vložkov ne uporabite ponovno.
- Biološke vzorce, pripomočke za prenašanje in uporabljene vložke je treba obravnavati kot sposobne prenašanja kužnih agensov, ki zahtevajo standardne previdnostne ukrepe. Za pravilno odstranitev uporabljenih vložkov in neuporabljenih reagentov upoštevajte smernice svoje ustanove za ravnanje z okoljskimi odpadki. Ti materiali imajo lahko lastnosti kemičnih nevarnih odpadkov, ki jih je treba obravnavati po točno določenem nacionalnem ali regionalnem postopku za odlaganje. Če nacionalni ali regionalni predpisi ne vključujejo jasnih navodil za pravilno odstranjevanje, je treba biološke vzorce in uporabljene vložke odstraniti skladno s smernicami SZO (Svetovna zdravstvena organizacija) za ravnanje z medicinskimi odpadki.
- Pokrovčka vložka ne odpirajte, dokler niste pripravljene na izvajanje testiranja.

10 Kemične nevarnosti^{17,18}

- Piktogram za nevarnost UN GHS: 
- Opozorilne besede: OPOZORILO
- Stavki o nevarnostih UN GHS

- Zdravju škodljivo pri zaužitju
- Povzroča draženje kože.
- Povzroča hudo draženje oči.
- **Previdnostni stavki UN GHS**
 - **Preprečevanje**
 - Po uporabi si temeljito umijte roke.
 - Ne jesti, piti ali kaditi med uporabo tega izdelka.
 - Preprečiti sproščanje v okolje.
 - Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.
 - **Odziv**
 - **PRI STIKU S KOŽO:** Umiti z veliko mila in vode.
 - Sleči kontaminirana oblačila in jih oprati pred ponovno uporabo.
 - Posebno zdravljenje, glejte dodatne informacije o prvi pomoči.
 - Če nastopi draženje kože: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
 - **PRI STIKU Z OČESOM:** Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.
 - Če draženje oči ne preneha: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
 - **PRI ZAUŽITJU:** Ob slabem počutju takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika.
 - Izprati usta.
 - **Shranjevanje/odstranjevanje**
 - Vsebinsko in/ali vsebnik odstranite v skladu z lokalnimi, regionalnimi, nacionalnimi in/ali mednarodnimi predpisi.

11 Odvzem vzorca, transport in shranjevanje

Vzorci brisov okužb kože in mehkih tkiv je mogoče odvzeti s pripomočkom za odvzem vzorcev Cepheid v skladu s standardnimi postopki uporabnikove ustanove. Vzorci brisov se vrnejo v plastično transportno epruveto (tekoče gojišče Stuart, priporočen je pripomoček za odvzem vzorcev družbe Cepheid ali Copan), shranijo pri sobni temperaturi in se naslednji dan pošljejo na mesto testiranja z instrumentom GeneXpert v obdelavo. Preostale netestirane brise za mikrobiološke kulture je treba dati v ustrezne transportne sisteme in jih kultivirati v 4 dneh. Če vzorca ne pošljete do naslednjega dne, ga je treba transportirati na ledu. Po drugi možnosti se brisi hranijo pri 2-8 °C za testiranje do 5 dni.

12 Mikrobiološka kultura

Za metode kultiviranja SSTI upoštevajte trenutne standardne laboratorijske delovne postopke. Za kultiviranje je treba preostale netestirane vzorce brisov dati v ustrezne transportne sisteme in jih kultivirati v 4 dneh.

13 Postopek

13.1 Priprava vložka

Pomembno Test začnite v 15 minutah od dodajanja reagentov v vložek.

Za dodajanje vzorca in elucijskega reagenta v vložek:

1. Vzemite vložek in elucijski reagent iz embalaže.
2. Vzemite bris iz transportnega vsebnika.

Opomba Za rokovanje z brisom uporabite sterilno gazo, da zmanjšate nevarnost kontaminacije.

3. Bris vstavite v epruveto, ki vsebuje elucijski reagent, in odlomite bris.
4. Zaprite pokrovček elucijske vialne in mešajte 10 sekund z vibracijskim mešalnikom pri visoki hitrosti.

5. Odprite pokrovček vložka. S čisto pipeto za prenos prenesite celotno vsebino elucijskega reagenta v komoro za vzorec vložka testa Xpert MRSA/SA SSTI.
6. Zaprite pokrovček vložka.



Slika 1. Vložek testa Xpert MRSA/SA SSTI (pogled od zgoraj)

13.2 Začetek testa

Pomembno

Pred začetkom testa preverite, da je datoteka za opredelitev testa Xpert MRSA/SA SSTI uvožena v programsko opremo.

To poglavje navaja privzete korake za upravljanje s sistemom instrumenta GeneXpert. Za podrobna navodila glejte *priročnik za uporabo sistema GeneXpert Dx oziroma priročnik za uporabo sistema GeneXpert Infinity*.

1. Vključite sistem instrumenta GeneXpert :

Opomba

Koraki, ki sledijo, so lahko drugačni, če je skrbnik sistema spremenil privzeti potek dela sistema.

- Če uporabljate instrument GeneXpert Dx, najprej vključite instrument, nato pa vključite še računalnik. Samodejno se bo zagnala programska oprema GeneXpert, morda pa bo zahtevan dvoklik na ikono bližnjice za programsko opremo GeneXpert Dx na namizju Windows®.
 - ali
 - Če uporabljate instrument GeneXpert Infinity, vključite instrument. Samodejno se bo zagnala programska oprema GeneXpert, morda pa bo zahtevan dvoklik na ikono bližnjice za programsko opremo Xpertise na namizju Windows®.
2. Prijavite se v programsko opremo sistema instrumenta GeneXpert s svojim uporabniškim imenom in geslom
 3. V oknu sistema GeneXpert kliknite **Ustvari test (Create Test)** (GeneXpert Dx) ali **Naročila (Orders)** in **Naroči test (Order Test)** (Infinity). Odpre se okno Ustvari test (Create Test)
 4. Skeniranje ID bolnika (izbirno). Če vtipkate ID bolnika (Patient ID), preverite, da ste jo vtipkali pravilno. ID bolnika je povezana z rezultati testa in je prikazana v oknu za ogledovanje rezultatov.
 5. Skenirajte ali vtipkajte ID vzorca (Sample ID). Če vtipkate ID vzorca (Sample ID), preverite, ali ste jo vtipkali pravilno. ID vzorca je povezana z rezultati testa in je prikazana v oknu za ogled rezultatov (View Results).
 6. Skenirajte črtno kodo na vložku testa Xpert MRSA/SA SSTI. Programska oprema z informacijami črtno kodo samodejno izpolni naslednja polja: Izberi test (Select Assay), ID serije reagentov (Reagent Lot ID), Serijska št. vložka (Cartridge SN) in Rok uporabe (Expiration Date).

Opomba

Če črtno kodo na vložku Xpert MRSA/SA SSTI ni mogoče skenirati, ponovite test z novim vložkom.

7. Kliknite **Začni test (Start Test)** (GeneXpert Dx) ali **Predloži (Submit)** (Infinity). Vtipkajte svoje geslo v pogovorno okno, ki se pojavi.
8. Na sistemu GeneXpert Infinity namestite vložek na transportni trak. Vložek se samodejno naloži, nato se izvede test, rabljeni vložek pa se prenese v vsebnik za odpadke.

ali

Za instrument GeneXpert Dx:

- a. Odprite vrata modula instrumenta z utripajočo zeleno lučjo in naložite vložek.
- b. Zaprite vrata. Test se začne izvajati, zelena luč pa preneha utripati. Ko je test končan, se luč izklopi.
- c. Preden odprete vrata in odstranite vložek, počakajte, da sistem sprost zaklepni mehanizem vrat.
- d. Uporabljene vložke je treba odvreči v ustrezne .

14 Pregledovanje in tiskanje rezultatov

Za podrobnejša navodila o tem, kako pregledovati in tiskati rezultate, glejte *priročnik za uporabo sistema GeneXpert Dx* oziroma *priročnik za uporabo sistema GeneXpert Infinity*.

1. Kliknite na **Pregledovanje rezultatov (View Results)** ikono za ogled rezultatov.
2. Ko se test konča, kliknite **Poročilo (Report)** gumb v oknu View Results (Ogled rezultatov) in si oglejte in/ali ustvarite datoteko s poročilom v obliki PDF.

15 Nadzor kakovosti

15.1 Vgrajene kontrole kakovosti

Vsak test vključuje kontrolo obdelave vzorca (SPC oziroma BG3 na zaslonu za ogled rezultatov za uporabnika na administrativni ravni) in kontrolo za preverjanje sonde (PCC).

- **Kontrola obdelave vzorca (SPC)** – zagotavlja, da je bil vzorec pravilno obdelan. SPC vsebuje spore *Bacillus globigii* v obliki suhe pogače, ki je vključena v vsak vložek za preverjanje ustrezne obdelave vzorca testa Xpert MRSA/SA SSTI. SPC preveri, da je prišlo do lize *Staphylococcus aureus*, če so organizmi prisotni, in preveri, da je bila obdelava vzorca ustrezna. Dodatno ta kontrola zazna inhibicijo testa PCR v realnem času, povezano z vzorcem, zagotavlja, da sta pogoja reakcije PCR (temperatura in čas) ustrezna za reakcijo amplifikacije in da reagenti za PCR delujejo. V negativnem vzorcu mora biti SPC pozitiven, v pozitivnem vzorcu pa je lahko negativen ali pozitiven. SPC je uspešen, če ustreza validiranim merilom sprejemljivosti.
- **Kontrola za preverjanje sonde (PCC)** – Pred začetkom reakcije PCR sistem GeneXpert izmeri signal fluorescence sond, da tako spremlja rehidracijo kroglic, polnjenje reakcijske epruvete, celovitosti sonde in stabilnost barve. Kontrola za preverjanje sonde je uspela, če izpolnjuje pripisana merila za sprejemljivost.

15.2 Zunanje kontrole

Za usposabljanje, preizkus strokovnosti in zunanji QC sistema GeneXpert se lahko uporabijo KWIK-STIKs (Microbiologics, kataloška št. 0158MRSA [*SCCmec* type II] in kataloška št. 0360SA kot pozitivni kontroli in št. 0371MSSE kot negativna kontrola). Če so na voljo, se lahko kot dodatne zunanje pozitivne kontrole uporabijo sevi MRSA, ki predstavljajo druge tipe *SCCmec*, za spremljanje začetnih nukleotidov testa in sond, ki niso neposredno kontrolirani v testu. Zunanje kontrole se lahko uporabljajo v skladu z akreditacijskimi ustanovami in vladnimi predpisi, kot je ustrezno. Upoštevajte postopek za zunanjo kontrolo Microbiologics, opisano spodaj:

1. Odtrgajte vrečko po zarezi in odstranite KWIK-STIK.
2. Stisnite spodnji del ampule v pokrovček, da sprostite vlažilno tekočino.
3. Držite pokonci in potrepeljajte, da omogočite pretok tekočine skozi tul na dno enote, ki vsebuje pelete.
4. Za lažje raztapljanje pelet liofiliziranih celic zdrobite pelet in nežno stisnite spodnjo komoro.
5. Povlecite narazen KWIK-STIK, da sprostite bris, in vstavite bris v epruveto z reagentom za elucijo (navojni pokrovček).
6. Bris KWIK-STIK je sedaj pripravljen za testiranje z Xpert MRSA/SA SSTI.
7. Če zunanji QC ne deluje, kot se pričakuje, ponovite testiranje z zunanjo kontrolo in/ali se obrnite na družbo Cepheid.

Primeri rezultatov testa Xpert MRSA/SA SSTI so prikazani v Slika 2 do Slika 5.

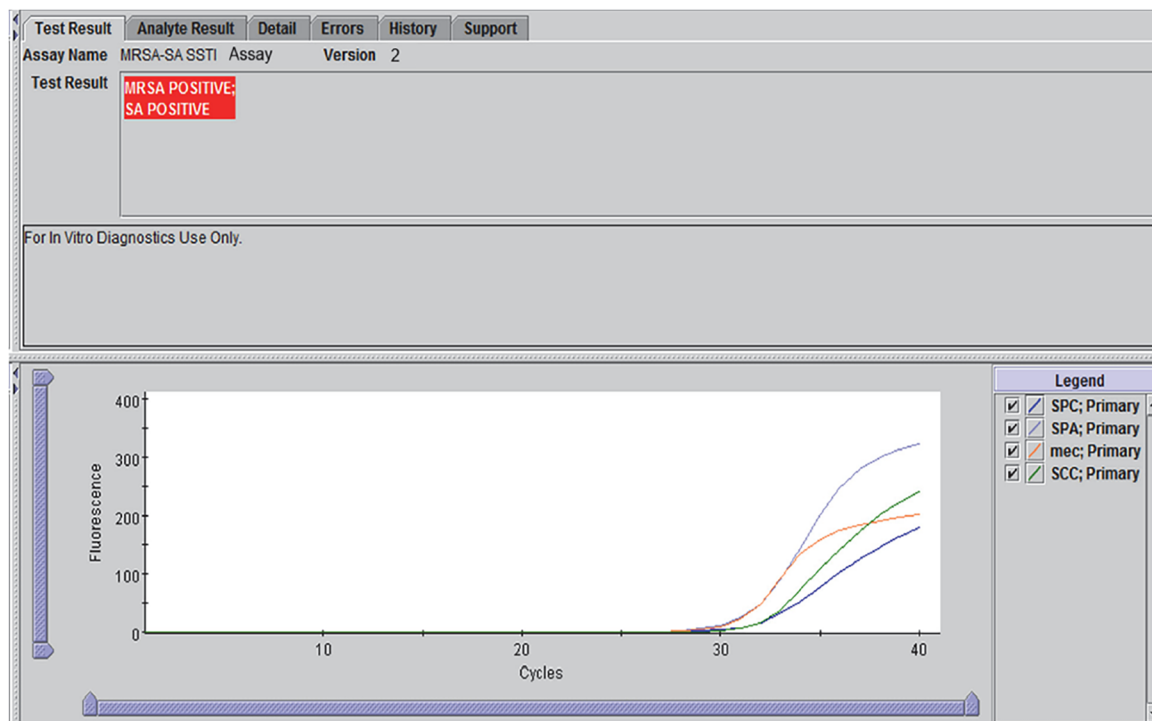
16 Tolmačenje rezultatov

Rezultate samodejno tolmači sistem instrumenta GeneXpert iz izmerjenih fluorescentnih signalov in vgrajenih algoritmov za izračun, prikazani pa so v **Pregledovanje rezultatov (View Results)** oknu. Možni rezultati so:

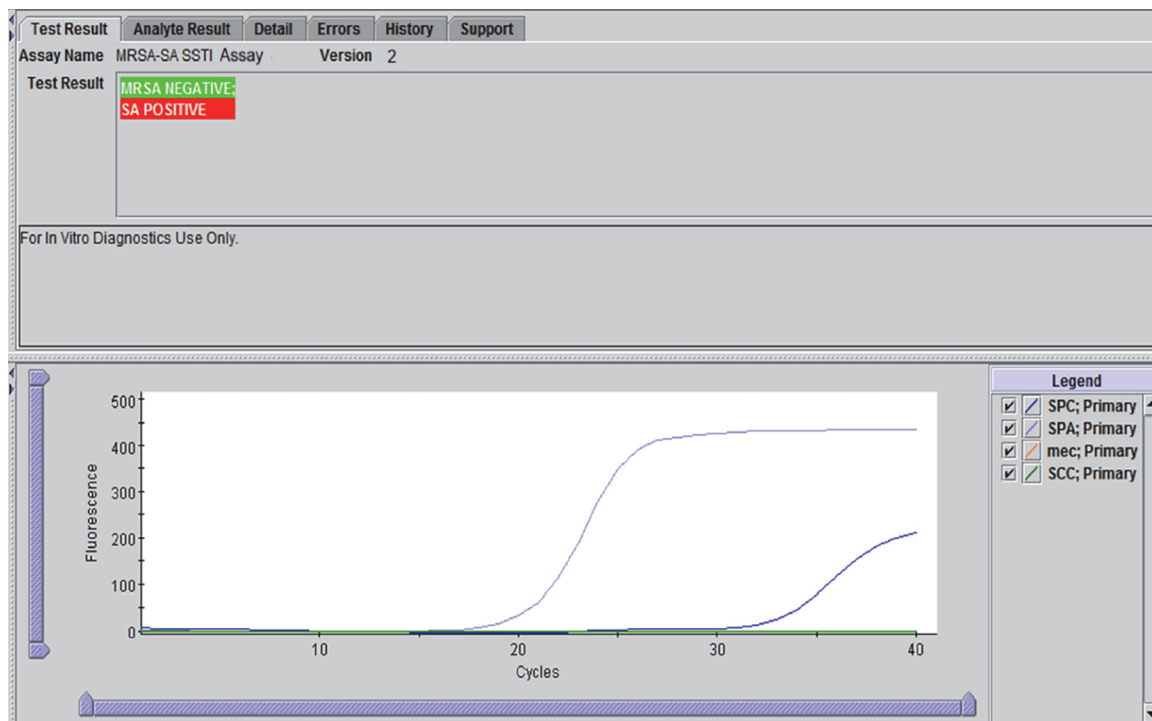
Preglednica 1. Rezultati in tolmačenje rezultatov MRSA/SA

Rezultat	Tolmačenje
<p>MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE)/SA POZITIVNO (SA POSITIVE)</p> <p>Slika 2</p>	<p>Test Xpert MRSA/SA SSTI lahko zazna dna MRSA in/ali SA iz neživih organizmov.</p> <p>Zaznana so tarčna zaporedja DNA MRSA/ zaznano je tarčno zaporedje DNA SA.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE) — vse tarče MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> in <i>SCCmec</i>) imajo prag cikla (Ct) znotraj veljavnega razpona in končno točko nad nastavitvijo minimuma. SPC – N/s (ni smiselno) (NA (not applicable)); SPC se prezre, ker lahko amplifikacija MRSA tekmuje s to kontrolo. Preverjanje sonde – USPEŠNO (PASS); vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
<p>MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)/SA POZITIVNO (SA POSITIVE)</p> <p>Slika 3</p>	<p>Test Xpert MRSA/SA SSTI lahko zazna dna MRSA in/ali SA iz neživih organizmov.</p> <ul style="list-style-type: none"> Tarčna zaporedja DNA MRSA niso zaznana/ zaznano je tarčno zaporedje DNA SA. SA POZITIVNO (SA POSITIVE) – tarča SA (<i>spa</i>) ima Ct znotraj veljavnega razpona in končno točko nad nastavitvijo minimuma. Tarčna DNA za <i>SCCmec</i> ni zaznana, tarčna DNA za <i>mecA</i> je lahko zaznana ali ne oziroma DNA za <i>SCCmec</i> je zaznana in tarčna DNA za <i>mecA</i> ni zaznana ("prazna kaset"). SPC – N/s (ni smiselno) (NA (not applicable)); SPC se prezre, ker lahko amplifikacija SA tekmuje s to kontrolo. Preverjanje sonde – USPEŠNO (PASS); vsi rezultati testiranja sond so uspešni. <p>Pozitivni rezultat testa ne nakazuje nujno prisotnosti živih organizmov. Vendar pa je domneva za prisotnost MRSA ali SA.</p>
<p>MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE)/SA NEGATIVNO (SA NEGATIVE)</p> <p>Slika 4</p>	<p>Tarčno zaporedje DNAC<i>Staphylococcus aureus</i>ni zaznana. SPC dosega merila sprejemljivosti.</p> <ul style="list-style-type: none"> NEGATIVNO(NEGATIVE) – tarčna DNA <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>spa</i>) ni zaznana. Tačna DNA za <i>mecA</i> je lahko zaznana ali ne oziroma tarčna DNA za <i>SCCmec</i> je lahko zaznana ali ne. SPC – USPEŠNO (PASS); SPC ima Ct znotraj veljavnega razpona in končno točko nad nastavitvijo minimuma. Preverjanje sonde – USPEŠNO (PASS); vsi rezultati testiranja sond so uspešni. <p>Lažno negativni rezultat za MRSA (rezultat "MRSA NEGATIVNO (MRSA NEGATIVE); SA POZITIVNO (SA POSITIVE)" namesto "MRSA POZITIVNO (MRSA POSITIVE); SA POZITIVNO (SA POSITIVE)") se lahko dobi, če sta v vzorcu prisotna tako MRSA kot tudi SA v razmerju MRSA:SA 1:1x10⁶ ali večjem.</p> <p>V kliničnih študijah je imelo 5 MRSA pozitivnih kultur od 246 mešano okužbo z MRSA in SA. Test Xpert MRSA/SA SSTI je zaznal 3 od 5 mešanih okužb kot MRSA pozitivne in 2 od 5 kot SApozitivni/MRSA negativni.</p>

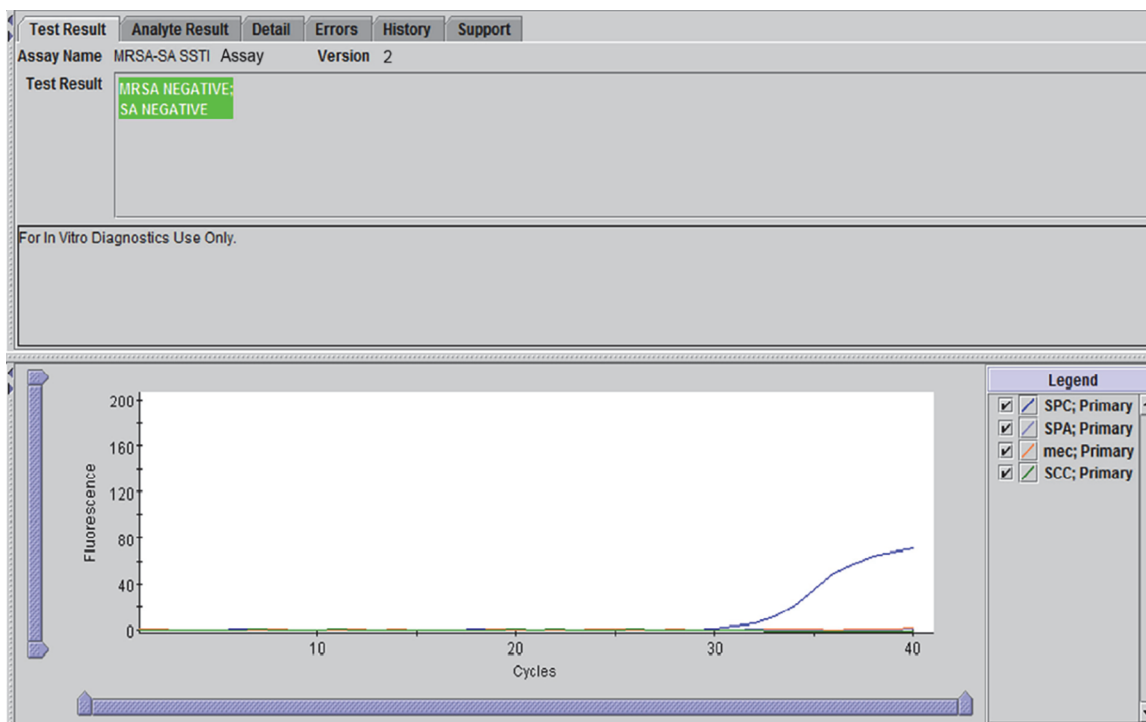
Rezultat	Tolmačenje
NEVELJAVNO (INVALID) Slika 5	<p>Prisotnost ali odsotnost tarčnih zaporedij DNA MRSA/SA ne more biti določeno, ponovite test v skladu z navodili v spodnjem poglavju. SPC ne dosega meril sprejemljivosti, vzorec ni bil ustrezno obdelan oziroma je prišlo do inhibicije PCR.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NEVELJAVNO (INVALID) – Prisotnosti ali odsotnosti DNA <i>Staphylococcus aureus</i> ni mogoče določiti. • SPC – NEUSPEH (FAIL); tarčni rezultat SPC je negativen in Ct ni znotraj veljavnega razpona in končna točka je pod nastavitvijo minimuma. • Preverjanje sonde – USPEŠNO (PASS); vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
NAPAKA (ERROR)	<p>Prisotnost ali odsotnost tarčnih zaporedij DNA MRSA/SA ne more biti določeno, ponovite test v skladu z navodili v spodnjem poglavju. Kontrola za preverjanja sonde ni uspela, verjetno zaradi nepravilno napolnjene reakcijske epruvete, ali je bila zaznana težava s celovitostjo sonde oziroma so presežene meje največjega tlaka.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA – BREZ REZULTATA (NO RESULT) • SA – BREZ REZULTATA (NO RESULT) • SPC – BREZ REZULTATA (NO RESULT) • Preverjanje sonde – NEUSPEH (FAIL)*, eden ali več od rezultatov testiranja sond ni uspel. <p>*Če je preverjanje sonde uspelo, napako povzroči okvara sistemske komponente.</p>
BREZ REZULTATA (NO RESULT)	<p>Prisotnost ali odsotnost tarčnih zaporedij DNA MRSA/SA ne more biti določeno, ponovite test v skladu z navodili v spodnjem poglavju. Za pridobitev rezultata testa je bilo zbranih premalo podatkov. Na primer, do tega lahko pride, če operator zaustavi testiranje, ki se je izvajalo.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA – BREZ REZULTATA (NO RESULT) • SA – BREZ REZULTATA (NO RESULT) • SPC – BREZ REZULTATA (NO RESULT) • Preverjanje sonde – N/s (ni smiselno) (NA (not applicable))



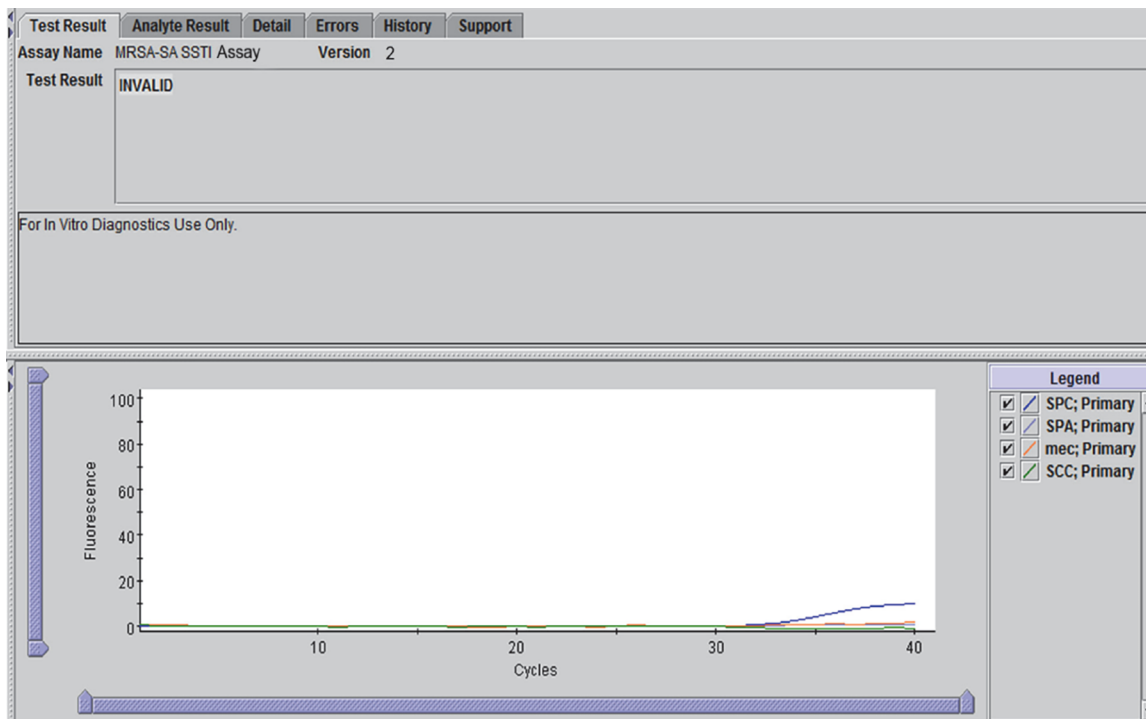
Slika 2. Primer rezultata MRSA pozitivno/SA pozitivno



Slika 3. Primer rezultata MRSA negativno/SA pozitivno



Slika 4. Primer rezultata MRSA negativno/SA negativno



Slika 5. Primer neveljavnega rezultata

17 Razlogi za ponovitev testa

17.1 Razlogi za ponovitev testa

Ponovite test z novim vložkom (vložka ne uporabite ponovno) in novimi reagenti. Ponovno testiranje izvedite v 3 urah po nedoločenem rezultatu.

- An **NEVELJAVNO (INVALID)** rezultat označuje, da je SPC neuspešen. Vzorec ni bil pravilno obdelan ali pa je prišlo do zaviranja PCR.
- An **NAPAKA (ERROR)** rezultat pomeni, da kontrola za preverjanja sonde ni uspela in je bil test prekinjen, verjetno zaradi nepravilno napolnjene reakcijske epruvete ali je bila zaznana težava s celovitostjo sonde reagenta oziroma ker so bile presežene meje maksimalnega tlaka.
- A **BREZ REZULTATA (NO RESULT)** pomeni, da ni bilo zbranih dovolj podatkov. Na primer, operater je zaustavil testiranje, ki se je izvajalo.
- Če zunanji QC ne deluje, kot se pričakuje, ponovite testiranje z zunanjo kontrolo in/ali se obrnite na družbo Cepheid.

17.2 Postopek ponovnega testiranja

Ponovite test z novim vložkom (vložka ne uporabite ponovno) in novo vialo z elucijskim reagentom.

Ponovitev testa, če se ponovno testiranje izvaja v 3 urah po nedoločenem rezultatu*:

1. S prenosno pipeto za enkratno uporabo prenesite preostalo vsebino iz komore za vzorec v nov elucijski reagent.
2. Premešajte z vibracijskim mešalnikom in dodajte celotno vsebino elucijskega reagenta v komoro za vzorec novega vložka testa MRSA/SA SSTI.
3. Zaprite pokrovček in zaženite novi test.

* Če ponovnega testiranja ni mogoče izvesti v 3 urah, uporabite nov vzorec.

18 Omejitve

- Učinkovitost testa Xpert MRSA/SA SSTI je bila validirana samo s postopki, navedenimi v teh navodilih. Spreminjanje teh postopkov lahko spremeni učinkovitost testa. Rezultate testa Xpert MRSA/SA SSTI je treba tolmačiti skupaj z drugimi laboratorijskimi in kliničnimi podatki, dosegljivimi zdravniku.
- Test Xpert MRSA/SA SSTI lahko zazna dna MRSA in/ali SA iz neživih organizmov. Verjetnost, da se to zgodi, se poveča pri bolnikih, ki jemljejo antibiotike. V ključni klinični študiji je bil delež lažno pozitivnih rezultatov (glede na kulturo) zaznavanja SA pri bolnikih, ki so uporabljali antibiotike v 3 tednih pred testiranjem z Xpert MRSA/SA, 13,8 %. Delež lažno pozitivnih rezultatov (glede na kulturo) zaznavanja MRSA pri bolnikih, ki so uporabljali antibiotike v 3 tednih pred testiranjem s testom Xpert MRSA/SA, je bil 9,5 %.
- Pozitivni rezultat testa ne nakazuje nujno prisotnosti živih organizmov. Vendar pa je domneva za prisotnost MRSA ali SA.
- Testiranje s testom Xpert MRSA/SA SSTI mora biti uporabljeno kot dodatno poleg drugih razpoložljivih metod.
- Do napačnih rezultatov lahko pride zaradi neustreznega odvzema vzorca, neupoštevanja priporočenega odvzema vzorca, postopkov pri rokovanju in shranjevanju, tehnične napake, zamenjave vzorcev ali zaradi premajhnega števila organizmov v vzorcu, da bi jih test zaznal. Da bi se izognili napačnim rezultatom, je treba natančno upoštevati navodila v tem dokumentu.
- Ker je zaznavanje MRSA in SA odvisno od številnih organizmov, prisotnih v vzorcu, so zanesljivi rezultati odvisni od ustreznega odvzema vzorca, obravnave in shranjevanja.
- Mutacije ali polimorfizem začetnega oligonukleotida ali vezavne regije sonde lahko vplivajo na zaznavanje novih ali neznanih variant MRSA, kar lahko privede do lažno negativnega rezultata.
- V vzorcih, ki vsebujejo tako MRSA kot tudi SA, test Xpert MRSA/SA SSTI morda ne bo zaznal proti meticilinu odpornih organizmov SA. (V ključnem kliničnem preskušanju s testom Xpert MRSA/SA SSTI ni bilo mogoče odkriti 2 od 5 vzorcev s pozitivno kulturo MRSA v primerih z dokumentiranimi mešanimi okužbami MRSA/SA.)
- V mešani kulturi je analizna LoD MRSA spremenljiva, kadar so prisotne ekstremno visoke koncentracije SA. Opažena je bila kompeticija z SA pri razmerju MRSA : SA 1 : 1 × 10⁶. V kliničnih študijah je imelo 5 MRSA pozitivnih kultur od 246 mešano okužbo z MRSA in SA. Test Xpert MRSA/SA SSTI je zaznal 3 od 5 mešanih okužb kot MRSA pozitivne in 2 od 5 kot SApozitivni/MRSA negativni.
- Inhibicijo testa MRSA/SA SSTI so opazili pri naslednjih snoveh: Antiseptik za stafilokoke (5 % m/v), hidrokortizon (5 % m/v) in antibakterijsko razkužilo za roke (5 % m/v).

- Vzorci, ki vsebujejo Mercurochrome, se zaradi svoje fluorescentne narave ne smejo uporabljati.
- Test Xpert MRSA/SA SSTI bo generiral lažno pozitiven rezultat za MRSA pri testiranju mešane okužbe vzorca SSTI, ki vsebuje tako na koagulazo negativen proti meticilinu odporen *Staphylococcus* (MRCNS) in na meticilin občutljiv *Staphylococcus aureus* (SA) prazne kasete.
- Zaradi faktorja redčenja, povezanega s postopkom ponovnega preskušanja, je mogoče, da pozitivni vzorci MRSA ali SA, ki so zelo blizu meje zaznavnosti (LoD) testa Xpert MRSA/SA SSTI, pri ponovnem preskusu dajo lažno negativen rezultat.

19 Moteče snovi

V raziskovalni študiji za test Xpert MRSA/SA SSTI je bilo ugotovljeno, da 428 od 848 vzorcev vsebuje kri, 404 pa vsebuje druge nespecifične snovi, ki bi lahko vplivale na test (upoštevati je treba, da so nekateri vzorci vsebovali več kot eno vrsto možnega kontaminanta). Fisherjev eksaktni testi, opravljeni na podlagi podatkov, pridobljenih iz brisov s temi možnimi motečimi snovmi ali brez njih, so pokazali, da njihova prisotnost ni vplivala na učinkovitost testa.

V neklinični študiji so potencialno moteče snovi, ki bi lahko bile prisotne v kliničnih vzorcih okužb kože in mehkega tkiva, ocenili neposredno glede na učinkovitost testa Xpert MRSA/SA SSTI. Potencialno moteče snovi za okužbe kože in mehkih tkiv so lahko med drugimi: kri, gnoj, plazma, topikalna mazila (antibiotična/antiseptična/protibolečinska), sredstva za odstranjevanje nekrotičnega tkiva in tinkture. Te snovi so navedene v Preglednica 2 in Preglednica 3 s prikazanimi aktivnimi sestavinami in testiranimi koncentracijami. Inhibicijo testa MRSA/SA SSTI so opazili pri naslednjih snoveh: Antiseptik za stafilokoke (5 % m/v), hidrokortizon (5 % m/v) in antibakterijsko razkužilo za roke (5 % m/v).

Vzorci, ki vsebujejo Mercurochrome, se zaradi svoje fluorescentne narave ne smejo uporabljati.

Preglednica 2. Testirane potencialno moteče snovi pri SSTI

Snov	Aktivna sestavina	Testirana konc.
Pufer TET	Kontrola	Kontrola
Buffy coat (nadomestek rane)	Levkociti (1,5 e9/ml)	50 % (v/v)
Polna kri (brez MRSA/SA)	Ni smiselno	50 % (v/v)
Plazma	Ni smiselno	50 % (v/v)
Neosporin	400 enot bacitracina 5.000 enot polimiksina B 3,5 mg neomicina	1 % in 5 % (m/v)
StaphA+Septic	0,2 % benzetonijev klorid, 2,5 % lidokain HCl	1 % in 5 % (m/v)
Hidrokortizon	1 % hidrokortizon	1 % in 5 % (m/v)
Boil-Ease	20 % benzokain	1 % in 5 % (m/v)
Jodova tinktura	2 % jod	50 % (v/v)

Preglednica 3. Testirane potencialno moteče snovi pri SSTI

Snov	Aktivna sestavina	Testirana konc.
Pufer TET (kontrola)	Kontrola	Kontrola
Mupirocin	0,2 % benzetonijev klorid 2,5 % lidokain HCl	5 % (m/v)
Polna kri (brez MRSA/SA)	Ni smiselno	50 % (v/v)
Fiziološka raztopina	0,65 % natrijev klorid	50 % (v/v)
Antibakterijsko razkužilo za roke	62 % etilni alkohol	1 % in 5 % (m/v)

Snov	Aktivna sestavina	Testirana konc.
70 % izopropilni alkohol	70 % izopropilni alkohol	50 % (v/v)

20 Pričakovane vrednosti

V klinično študijo Xpert MRSA/SA SSTI je bilo vključenih skupno 848 SSTI vzorcev iz štirih velikih bolnišnic iz ZDA. Število in odstotek pozitivnih primerov z referenčno metodo s kulturo, izračunana po starostni skupini, sta predstavljena v Preglednica 4.

Preglednica 4. Opažena prevalenca MRSA in SA po kulturi

Starostna skupina	Skupni N	MRSA po kulturi		SA po kulturi	
		Število pozitivnih	Opažena prevalenca	Število pozitivnih	Opažena prevalenca
Starost pod 3	34	11	32,4%	21	61,8%
Starost 3 do 18	100	25	25,0%	55	55,0%
Starost 19 do 65	614	188	30,6%	300	48,9%
Starost 66 in več	100	22	22,0%	35	35,0%

21 Značilnosti učinkovitosti

21.1 Klinična učinkovitost

Značilnosti delovanja testa Xpert MRSA/SA SSTI so bile določene v več-centrični preiskovalni študiji v štirih ustanovah v ZDA s primerjavo testa Xpert MRSA/SA SSTI z referenčnimi kulturami. Preiskovanci so bili posamezniki, katerih rutinska oskrba je zahtevala odvzem brisa z okužbe bolnikove kože in mehkega tkiva za kulturo.

Z vsakega preiskovanca so odvzeli dvojni bris. En bris so testirali s testom Xpert MRSA/SA SSTI v vključenem centru, drugega so testirali po standardni metodi v centru, preostali vzorec pa so poslali v centralni laboratorij na referenčno testiranje s kulturo.

V centraliziranem laboratoriju so vzorec obogatili preko noči v triptičnem sojinem bujonu s 6,5 % NaCl. Triptični sojin bujon so nato nanegli v progah na plošče s cefoksitinom (za MRSA) in brez cefoksitina (za SA). Če je ena od ali obe plošči z MRSA oziroma SA pokazala domnevne kolonije *S. aureus*, so kolonije subkultivirali na ploščo s krvnim agarjem. Potrditev domnevnih pozitivnih kolonij so izvedli s katalazo, koagulazo v epruveti in z barvanjem po Gramu. Odpornost proti oksacilinu zaradi *MecA* so testirali s testom z disk difuzijo z uporabo diska s 30 µg cefoksitina in mejnim premerom 21/22 mm. Če so bile kulture na obeh ploščah, SA in MRSA, določene kot negativne, so arhivirani triptični sojin bujon s 6,5 % NaCl subkultivirali na krvni agar, nato pa preiskali za SA/MRSA, kot je bilo predhodno opisano.

Učinkovitost testa Xpert MRSA/SA SSTI je bila izračunana glede na referenčne rezultate kultur.

21.2 Splošni rezultati

S testom Xpert MRSA/SA SSTI in s kulturo je bilo na MRSA in SA skupaj testiranih 848 vzorcev.

Med 848 primeri iz ustreznega nabora podatkov so poročali o uporabi antibiotikov v 3 tednih pred odvzemom vzorca pri 207 preiskovancih, pri 441 preiskovancih pa uporaba antibiotikov ni bila potrjena. V 200 primerih je bil status antibiotikov neznan. Pri uporabi antibiotikov so opazili statistično pomembno zmanjšanje stopnje pozitivnosti SA glede na rezultate kulture ($p = 0,007$). Ta pojav je opisan tudi v literaturi.^{10, 11, 12, 13, 14} Stopnja pozitivnosti MRSA za kulturo se je prav tako zmanjšala, čeprav v manjši meri ($p = 0,022$). Zmanjšanje pozitivnosti pri testu Xpert MRSA/SA SSTI pri uporabi antibiotikov ni bilo opaženo, prav tako pa tudi v testu ob prisotnosti topikalnih antibiotikov ni bila opažena nobena inhibicija (glejte poglavje 20 Moteče snovi). Zmanjšanje stopnje pozitivnosti kulture za MRSA in SA v prisotnosti antibiotikov je povzročilo delež lažno pozitivne stopnje, ki so bile višje od pričakovanih, ugotovljenih s testom Xpert MRSA/SA SSTI.

Pet od 246 MRSA pozitivnih kultur je imelo mešano okužbo z MRSA in SA. Test Xpert MRSA/SA SSTI je zaznal 3 od 5 mešanih okužb kot MRSA pozitivne in 2 od 5 kot SApozitivni/MRSA negativni.

Učinkovitost testa Xpert MRSA/SA SSTI je povzeta v Preglednica 5 do Preglednica 7.

Preglednica 5. Učinkovitost MRSA/SA pri preiskovancih brez uporabe antibiotikov (v 3 tednih pred odvzemom vzorca) vs. referenčna kultura

Kultura				
	MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/ni rasti	Skupno
MRSA+	137 ^a	2	6	145
SA+/MRSA-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Skupno	146	85	210	441

^a 1 od 137 je mešana okužba MRSA in SA.

^b 2 od 3 sta mešani okužbi MRSA in SA.

Odstotek pozitivnega ujemanja (MRSA+) = 93,8. 95-odstotni interval zaupanja = 88,6–97,1

Odstotek negativnega ujemanja (MRSA+) = 97,3. 95-odstotni interval zaupanja = 94,7–98,8

Odstotek pozitivnega ujemanja (SA+/MRSA+) = 95,7. 95-odstotni interval zaupanja = 92,2–97,9

Odstotek negativnega ujemanja (SA+/MRSA+) = 89,5. 95-odstotni interval zaupanja = 84,6–93,3

Med preskušanci, ki v 3 tednih pred odvzemom vzorca niso uporabljali antibiotikov, je test Xpert MRSA/SA SSTI identificiral 93,8 % vzorcev pozitivnih na MRSA in 97,3 % vzorcev negativnih na MRSA glede na referenčno metodo kulture in 95,7 % vzorcev pozitivnih na SA in 89,5 % vzorcev negativnih na SA glede na referenčno metodo kulture.

Med temi preiskovanci brez uporabe antibiotikov, je bilo 96,8 % (427/441) s testom Xpert MRSA/SA SSTI uspešnih ob prvem poskusu. Preostalih 14 je dalo pri prvem poskusu nedoločen rezultat (6 **NEVELJAVNO (INVALID)**, 7 **NAPAKA (ERROR)** in 1 **BREZ REZULTATA (NO RESULT)**). Od 14 nedoločenih ob prvem poskusu je vseh dalo rezultat ob drugem poskusu.

Preglednica 6. Učinkovitost MRSA/SA pri preiskovancih z neznano uporabo antibiotikov (v 3 tednih pred odvzemom vzorca) vs. referenčna kultura

Kultura					
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/ni rasti	Skupno
Xpert	MRSA+	47 ^a	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Skupno	50	47	103	200

^a 2 od 47 sta mešani okužbi MRSA in SA

Odstotek pozitivnega ujemanja (MRSA+) = 94,0. 95-odstotni interval zaupanja = 83,5–98,7

Odstotek negativnega ujemanja (MRSA+) = 97,3. 95-odstotni interval zaupanja = 93,3–99,3

Odstotek pozitivnega ujemanja (SA+/MRSA+) = 96,9. 95-odstotni interval zaupanja = 91,2–99,4

Odstotek negativnega ujemanja (SA+/MRSA+) = 88,3. 95-odstotni interval zaupanja = 80,5–93,8

Ko ni bilo znano, ali so preiskovanci v 3 tednih pred odvzemom vzorca jemali antibiotike, je test Xpert MRSA/SA SSTI identificiral 94,0 % vzorcev pozitivnih na MRSA in 97,3 % vzorcev negativnih na MRSA glede na referenčno metodo kulture in 96,9 % vzorcev pozitivnih na SA in 88,3 % vzorcev negativnih na SA glede na referenčno metodo kulture.

Med temi preiskovanci z neznano uporabo antibiotikov je bilo 97,0 % (194/200) s testom Xpert MRSA/SA SSTI uspešnih ob prvem poskusu. Preostalih 6 je dalo pri prvem poskusu nedoločen rezultat (2 **NEVELJAVNO (INVALID)**, 3 **NAPAKA (ERROR)** in 1 **BREZ REZULTATA (NO RESULT)**). Od 6 nedoločenih ob prvem poskusu je vseh dalo rezultat ob drugem poskusu.

Preglednica 7. Učinkovitost MRSA/SA pri preiskovancih z znano uporabo antibiotikov (v 3 tednih pred odvzemanjem vzorca) vs. referenčna kultura

		Kultura			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/ni rasti	Skupno
Xpert	MRSA+	44	2	10	56
	SA+/MRSA-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Skupno	50	34	123	207

Odstotek pozitivnega ujemanja (MRSA+) = 88,0. 95-odstotni interval zaupanja = 75,7–95,5

Odstotek negativnega ujemanja (MRSA+) = 92,4. 95-odstotni interval zaupanja = 87,0–96,0

Odstotek pozitivnega ujemanja (SA+/MRSA+) = 95,2. 95-odstotni interval zaupanja = 88,3–98,7

Odstotek negativnega ujemanja (SA+/MRSA+) = 76,4. 95-odstotni interval zaupanja = 67,9–83,6

Med preiskovanci z znano uporabo antibiotikov v 3 tednih pred odvzemanjem vzorca je test Xpert MRSA/SA SSTI identificiral 88,0 % vzorcev pozitivnih na MRSA in 92,4 % vzorcev negativnih na MRSA glede na referenčno metodo kulture in 95,2 % vzorcev pozitivnih na SA in 76,4 % vzorcev negativnih na SA glede na referenčno metodo kulture.

Med temi preiskovanci z uporabo antibiotikov je bilo 96,1 % (199/207) ustreznih vzorcev s testom Xpert MRSA/SA SSTI uspešnih ob prvem poskusu. Preostalih 8 je dalo pri prvem poskusu nedoločen rezultat (5 **NEVELJAVNO (INVALID)** in 3 **NAPAKA (ERROR)**). Od 8 nedoločenih ob prvem poskusu je vseh dalo rezultat ob drugem poskusu.

21.3 Različice prazne kasete

Da test Xpert MRSA/SA SSTI identificira izolat kot MRSA pozitiven, mora biti pozitiven test za *spa*, kakor tudi test za *mecA* in *SCCmec*. Izolat, ki je pozitiven za *spa* in *SCCmec*, vendar ne za *mecA*, je sporočen kot SA, saj je občutljiv za meticilin. Do te situacije lahko pride, ko je del elementa *SCCmec*, ki nosi *mecA*, izrezan, vendar konci tega elementa ostanejo na mestu, kar daje pozitiven signal za *SCCmec*. Te izolate se pogosto navaja kot „različice prazne kasete“ in niso pogosti v kliničnem okolju. Pomen teh izolatov je v potencialni motnji testa za MRSA, ki ne odkriva neposredno gena *mecA*. Test Xpert MRSA/SA SSTI je bil zasnovan za pravilno identifikacijo teh različic kot SA.

Med primernimi vzorci, vključenimi v analize podatkov, ki so predstavljene v tem poročilu, je skupno 16 izolatov primernih za profil prazne kasete, kar je privedlo do pozitivnih rezultatov testov *spa* in *SCCmec*, vendar pa ni zaznan *mecA* (CT = 0), kot je prikazano v Preglednica 8. Petnajst (15) od 16 je bilo preverjenih pravih negativnih izolatov MRSA glede na kulturo, 14 od 16 pa je bilo preverjenih pravih pozitivnih izolatov SA glede na kulturo. En izolat je bil s kulturo identificiran kot MRSA in 2 izolata sta bila s kulturo tako MRSA kot SA negativna.

Preglednica 8. Učinkovitost testa MRSA/SA SSTI vs. referenčna kultura – različice prazne kasete

Št. preiskovanca	Xpert rezultat	<i>spa</i> (Ct)	<i>mecA</i> (Ct)	SCCmec (Ct)	Kultura	XPert vs. kultura	
						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

Št. preiskovanca	Xpert rezultat	spa (Ct)	mecA (Ct)	SCCmec (Ct)	Kultura	Xpert vs. kultura	
						MRSA	SA
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 Analizna učinkovitost

22.1 Analizna specifičnost, študija navzkrižne reaktivnosti

Zbrali so sto pet (105) sevov, ki so jih kvantificirali in testirali s testom Xpert MRSA/SA SSTI. 98 kultur iz zbirke kultur ameriških tipov (ATCC) in 7 sevov iz mreže o protimikrobni odpornosti pri *Staphylococcus aureus* (NARSA) predstavlja vrsto, filogenetsko povezano s *Staphylococcus aureus*, ali tistimi, ki jih lahko najdemo v bolnišničnem okolju.

Med njimi so bili vključeni na meticilin občutljivi na koagulazo negativni stafilokoki (29) in proti meticilinu odporni na koagulazo negativni stafilokoki (9). Testirani mikroorganizmi so bili identificirani kot grampozitivni (74), gramnegativni (28) ali kvasovke (3). Mikroorganizmi so bili nadalje razvrščeni kot aerobni (95) ali anaerobni (10).

Dva (2) ali več replikatov vsakega izolata so testirali pri 1,7–3,2 enotah McFarland. Pri pogojih študije so bili vsi izolati sporočeni kot MRSA negativni in SA negativni. Test Xpert MRSA/SA SSTI ni zaznal nobenega od izolatov. V študijo so bile vključene pozitivne in negativne kontrole. Analizna specifičnost je bila 100 %.

22.2 Ocena sevov BORSA

Sedem (7) dobro karakteriziranih sevov proti oksacilinu odpornega *Staphylococcus aureus* z mejno odpornostjo (BORSA), vključno z enim očitno „prazno kaseto“ (glejte zgoraj). Proti meticilinu odporen *Staphylococcus aureus* je odporen proti vsem β-laktamskim zdravilom zaradi alternativne beljakovine PBP2a, ki veže penicilin, ki jo kodira *mecA*¹⁵. Sevi BORSA so *mecA* negativni, vendar izražajo minimalno inhibitorno koncentracijo (MIC) za oksacilin ≥ 2 in ≤ 8 μg/ml. Posebej pomembno je razlikovati med MRSA in BORSA, da se prepreči nepotrebna in neprimerna uporaba vankomicina in previdnostni ukrepi z izolacijo, ki niso potrebni pri bolnikih, okuženih s sevom¹⁶, občutljivim na β-laktam.

Pri pogojih te študije je bilo tako pri visokih kot tudi pri nizkih koncentracijah z uporabo testa Xpert MRSA/SA SSTI za vseh 7 izolatov (vključno z izolatom očitno „prazno kaseto“) sporočeno MRSA negativno/SA pozitivno. Sporočen ni bil noben signal *mecA*. Ti rezultati kažejo, da bo sev BORSA pravilno identificiran kot MRSA negativno/SA pozitivno in s testom Xpert MRSA/SA SSTI ne bo sporočen lažno pozitiven rezultat testa za MRSA.

22.3 Analitična občutljivost

Študije meje zaznavnosti

Izvedene so bile študije za določitev 95-odstotnih intervalov zaupanja za analizno mejo zaznavnosti (LoD) celic *Staphylococcus aureus* (SA) in proti meticilinu odpornega *Staphylococcus aureus* (MRSA), razredčenih v nadomestnem matriksu ran človeškega izvora. Nadomestni matriks ran je tvoril koncentrat belih krvničk (WBC), s centrifugiranjem pridobljen iz polne krvi. Matriks je vseboval tudi rdeče krvničke (RBC) in plazmo ter zanemarljivo količino antikoagulantov.

(CPD ali CPDA-1). Meja zaznavnosti je opredeljena kot najnižje število enot, ki tvorijo kolonije (CFU) v vzorcu, ki se lahko ponovljivo razlikuje od negativnega vzorca s 95-odstotno zanesljivostjo ali najnižjo koncentracijo, pri kateri je bilo pozitivnih 19 od 20 replikatov.

Za MRSA je bilo ocenjenih 20 replikatov za vsako testirano koncentracijo (CFU/bris) za 6 ločenih izolatov, ki predstavljajo SCCmec tipa I, II, III, IVa, V in VI. Ob karakterizaciji z gelsko elektroforezo v pulzirajočem polju (PFGE) je bil predstavljen najpogostejši sev bolnišničnega okolja, USA100, in eden od najpogostejših sevov domačega okolja, USA400.

Za SA je bilo ocenjenih 20 replikatov za vsako koncentracijo SA (CFU/bris) za 3 ločene izolate SA. Predstavljena sta bila USA tipa USA900 in USA1200.

Oceno in intervale zaupanja so določili z logistično regresijo s podatki (število pozitivnih rezultatov na število replikatov na vsaki ravni) v razponu testiranih CFU/bris. Intervali zaupanja so bili določeni z oceno največje verjetnosti parametrov logističnega modela z uporabo matrike varianca – kovarianca velikega vzorca. Ocene točke LoD ter 95-odstotni zgornji in spodnji interval zaupanja za vsak tip SA in vsak testiran tip MRSA SCCmec so povzeti v Preglednica 9 in Preglednica 10.

Preglednica 9. 95-odstotni interval zaupanja za analizo LoD – SA

ID seva SA	PFGE	LoD (CFU/bris)	Spodnji 95 % CI	Zgornji 95 % CI
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	neznano	123	97	188

Preglednica 10. 95-odstotni interval zaupanja za analizo LoD – MRSA

ID seva MRSA	SCCmec tip	PFGE	LoD (CFU/bris)	Spodnji 95 % CI	Zgornji 95 % CI
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	neznano	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Rezultati te študije kažejo, da bo test Xpert MRSA/SA SSTI dal pozitiven rezultat za SA v 95 % primerov s 95-odstotno zanesljivostjo za bris rane, ki vsebuje 150 CFU, in pozitiven rezultat za MRSA v 95 % primerov s 95-odstotno zanesljivostjo za bris rane, ki vsebuje 300 CFU.

Dodatno so s testom Xpert MRSA/SA SSTI testirali sto enaindvajset (121) sevov *Staphylococcus aureus*. Kulture so gojili v gojišču BHI (Brain Heart Infusion) 24 ur in jih prilagodili na 0,5 enot McFarland. Vse seve so testirali v treh ponovitvah tako, da so 100 µl kultur nadalje razredčili sto tisočkrat do milijonkrat.

Seve MRSA (78) in SA (43) so izbrali tako, da predstavljajo razpon genetske diverzitete, ki jo najdemo v vrsti *Staphylococcus aureus* na podlagi filogenetske strukture. Izbori predstavljajo primarne linije s poudarkom na specifičnih klonskih kompleksih, znotraj katerih se pretežno opazuje MRSA. Vključene so bile tako linije, ki obsegajo MRSA in SA, kot tudi tiste, ki obsegajo izključno SA.

Test Xpert MRSA/SA SSTI je pravilno identificiral 116 od 121 sevov. 5 neskladnih so karakterilizirali s katalazo, koagulazo v epruveti in z barvanjem po Gramu. Odpornost proti oksacilinu zaradi *MecA* so ocenili z disk difuzijo z uporabo diska s 30 µg cefoksitina in mejnim premerom 21/22 mm.

Za tri (3) od 78 sevov MRSA je bilo s testom Xpert MRSA/SA SSTI sporočeno MRSA negativno/SA pozitivno. Nadaljnja karakterizacija pokaže, da ti sevi niso odporni in so bili pravilno sporočeni kot MRSA negativni; SA pozitivni.

Za dva (2) od 43 sevov SA je bilo s testom Xpert MRSA/SA SSTI sporočeno MRSA pozitivno/SA pozitivno. Nadaljnja karakterizacija pokaže, da sta ta seva odporna in sta bila pravilno sporočena kot MRSA pozitivna/SA pozitivna.

Za vsakega od 12 znanih izolatov USA300 je bilo po pričakovanju pravilno sporočeno MRSA pozitivno in SA pozitivno.

23 Ocena različic prazne kasete

S testom Xpert MRSA/SA SSTI so testirali dvaindvajset (22) izolatov *Staphylococcus aureus*, identificiranih kot „različica prazne kasete“. Kulture so bile po 24-urnem kultiviranju prilagojene na 0,5 enot McFarland. Vse seve so testirali iz kultur, nadalje razredčenih 100-krat (visoko) in sto tisočkrat (nizko).

Test Xpert MRSA/SA SSTI je pravilno identificiral vseh 22 izolatov kot MRSA negativno in SA pozitivno. Pri obeh testiranih koncentracijah sta bili sporočeni Ct samo za tarči *spa* in *SCCmec*. Sporočen ni bil noben *meaA* Ct.

24 Študija navzkrižne kontaminacije

Opravljen je bil študija, ki je pokazala, da samostojni vložki GeneXpert za enkratno uporabo preprečujejo navzkrižno kontaminacijo negativnih vzorcev, ki v istem modulu GeneXpert sledijo zelo visoko pozitivnim vzorcem. Študijo je tvoril negativen vzorec, obdelan v istem modulu sistema GeneXpert, takoj po visoko pozitivnem vzorcu MRSA (približno 10^7 CFU/test). To so 20 krat ponovili na 2 modulih GeneXpert za skupno 42 izvedb. Ni bilo znakov za navzkrižno kontaminacijo. Vseh 21 pozitivnih vzorcev je bilo sporočenih kot MRSA pozitivnih/SA pozitivnih. Za vseh 21 negativnih vzorcev je bilo pravilno sporočeno MRSA negativno/SA negativno.

25 Ponovljivost

Panel z 10 vzorci z različnimi koncentracijami SA, MRSA in *Staphylococcus epidermidis* (negativen) so testirali v duplikatu 10 različnih dni na vsaki od treh lokacij (10 vzorcev × 2-krat/dan × 10 dni × 3 lokacije). En lot kompleta testa Xpert MRSA/SA je bil uporabljen za vsakega od 3 testnih centrov. Testi XpertMRSA/SA so bili izvedeni v skladu s testnim postopkom Xpert MRSA/SA SSTI.

Preglednica 11. Povzetek rezultatov ponovljivosti

ID vzorca	Center 1	Center 2	Center 3	Skupno ujemanje
Neg (MSSE)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA visoko neg.	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,7 % (58/60)
SA nizko 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 nizko 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 nizko poz.	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,6 % (58/60)
% skupnega soglasja na center	100 % (140/140)	97,9% (137/140)	95,7 % (134/140)	97,9 % (411/420)

Preglednica 12. Povzetek rezultatov vrednosti Ct po ravni vzorca in sondi

Raven	Povprečje	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
SA visoko neg.	34,38	0,92	2,66
spa			
Raven	Povprečje	Std. dev.	% CV
MRSA1 nizko poz.	32,96	0,8	2,44

Raven	Povprečje	Std. dev.	% CV
MRSA2 nizko poz.	31,05	0,69	2,21
SA nizko poz.	33,91	0,8	2,35
<i>mecA</i>			
Raven	Povprečje	Std. dev.	% CV
MRSA1 nizko poz.	33,25	0,80	2,40
MRSA2 nizko poz.	31,50	0,68	2,16
<i>SCCmec</i>			
Raven	Povprečje	Std. dev.	% CV
MRSA1 nizko poz.	34,19	0,90	2,63
MRSA2 nizko poz.	33,13	0,68	2,05

Izvedena je bila tudi druga študija ponovljivosti s panelom 4 vzorcev (SA: 10 × LoD, MRSA1: 10 × LoD, MRSA2: 10 × LoD in negativna kontrola: *Staphylococcus epidermidis*). Panele so testirali v duplikatih v 10 različnih dnevih na vsakem od treh lokacij (4 vzorci × 2-krat/dan × 10 dni × 3 lokacije). En lot kompleta testa Xpert MRSA/SA SSTI je bil uporabljen za vsakega od 3 testnih centrov. Testi Xpert MRSA/SA SSTI so bili izvedeni v skladu s testnim postopkom Xpert MRSA/SA SSTI. Pravilne rezultate je dalo 239 od 240 testov.

Preglednica 13. Povzetek rezultatov ponovljivosti

ID vzorca	Center 1	Center 2	Center 3	Skupno ujemanje
Neg (MSSE)	100 (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA zmerno poz. ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
MRSA1 zmerno poz. ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
MRSA2 zmerno poz. ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
% skupnega soglasja na center	100 % (80/80)	100 % (80/80)	98,8 % (79/80)	99,6 % (239/240)

^a 10 × LoD

Preglednica 14. Povzetek rezultatov vrednosti Ct po ravni vzorca in sondi

Raven	Povprečje	Std. dev.	% CV
<i>SPC</i>			
MRSA1 zmerno poz.	35,72	1,87	5,24
MRSA2 zmerno poz.	36,29	2,66	7,34
SA zmerno poz.	34,55	1,19	3,44
NEG	34,45	1,06	3,09
<i>spa</i>			
Raven	Povprečje	Std. dev.	% CV
MRSA1 zmerno poz.	29,52	1,30	4,40
MRSA2 zmerno poz.	28,91	1,03	3,57

Raven	Povprečje	Std. dev.	% CV
SA zmerno poz.	30,59	0,91	2,99
mecA			
Raven	Povprečje	Std. dev.	% CV
MRSA1 zmerno poz.	29,78	1,28	4,29
MRSA2 zmerno poz.	29,32	1,24	4,22
SCCmec			
Raven	Povprečje	Std. dev.	% CV
MRSA1 zmerno poz.	31,49	1,26	3,99
MRSA2 zmerno poz.	31,05	1,12	3,59

26 Reference

- Bannerman TL. 2003, poglavje 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. strani 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, izdano oktobra 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 (glejte zadnjo izdajo).
- 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.
- UREDBA (IO) št. 1272/2008 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju označevanja in pakiranju snovi in mešanic, ki spreminja in razveljavlja Seznam previdnostnih stavkov, direktivi 67/548/EGS in 1999/ES (ki spreminja uredbo (IO) št. 1907/2006).

18. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012)
(29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

27 Kraji sedeža družbe Cepheid

Sedež družbe

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sedež v Evropi

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

28 Tehnična pomoč

Preden stopite v stik z oddelkom za tehnično podporo Cepheid, zberite naslednje informacije:

- Ime izdelka
- Številka lota
- Serijska številka instrumenta
- Sporočila o napakah (če so se prikazala)
- Različica programske opreme in, če je primerno, številko značke računalniškega servisa

Združene države Amerike




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















Francija

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

Informacije za stik z vsemi oddelki za tehnično podporo Cepheid so na voljo na naši spletni strani: www.cepheid.com/en/support/contact-us

29 Preglednica simbolov

Simbol	Pomen
	Kataloška številka
	In vitro diagnostični medicinski pripomoček
	Ne uporabite ponovno

Simbol	Pomen
	Številka serije
	Glejte navodila za uporabo
	Svarilo
	Izdelovalec
	Država izdelave
	Vsebina zadostuje za testov
	Kontrola
	Rok uporabnosti
	Oznaka CE – skladnost z evropskimi predpisi
	Omejitev temperature
	Opozorilo
	Biološka tveganja
	Pooblaščen zastopnik v Švici
	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 Zgodovina revizij

Razdelek	Opis spremembe
Preglednica simbolov	Dodan pooblaščen zastopnik za Švico (CH REP) in simboli uvoznika ter opredelitve v tabeli simbolov. Dodan pooblaščen zastopnik za Švico (CH REP) in informacije uvoznika z naslovom v Švici.
Zgodovina revizij	Posodobljena preglednica Zgodovina revizij.