

Xpert® Carba-R

REF **GXCARBARP-CE-10**

GXCARBARP-CE-120

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.

Remel[™] is a trademark of Remel.

BBL[™] and Sensi-Disc[™] are trademarks of Becton Dickinson.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © Cepheid 2018-2023. All rights reserved.

Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] i Xpert[®] są znakami towarowymi firmy Cepheid.

Remel[™] jest znakiem towarowym firmy Remel.

BBL[™] i Sensi-Disc[™] są znakami towarowymi firmy Becton Dickinson.

Windows[®] jest znakiem towarowym firmy Microsoft Corporation.

NABYWCA TEGO PRODUKTU UZYSKUJE NIEZBYWALNE PRAWO DO UŻYWANIA TEGO PRODUKTU ZGODNIE Z NINIEJSZĄ ULOTKĄ INFORMACYJNĄ. NABYWCA NIE UZYSKUJE ŻADNYCH INNYCH PRAW W SPOSÓB WYRAŹNY, DOROZUMIANY LUB PRZEZ ESTOPPEL. PONADTO NABYWCA TEGO PRODUKTU NIE UZYSKUJE ŻADNYCH PRAW DO ODSPRZEDAŻY TEGO PRODUKTU.

Copyright © Cepheid 2018-2023. Wszelkie prawa zastrzeżone.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Tel: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Tel: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301

Xpert[®] Carba-R

Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*

1 Nazwa zastrzeżona

Xpert[®] Carba-R

2 Nazwa powszechna

Test Xpert Carba-R

3 Przeznaczenie wyrobu

Xpert Carba-R, wykonywany na aparatach aparat GeneXpert[®], to test diagnostyczny *in vitro* do analizy jakościowej, umożliwiający wykrywanie i rozróżnianie sekwencji genów *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP} związanych z niewrażliwością na karbapenemy. Test wykorzystuje zautomatyzowaną reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym (PCR).

Test Xpert Carba-R jest przeznaczony jako pomoc w kontroli zakażeń i wykrywaniu bakterii niewrażliwych na karbapenemy, które kolonizują pacjentów w środowiskach opieki zdrowotnej. Wynik ujemny testu Xpert Carba-R nie wyklucza obecności innych mechanizmów oporności.

Test Xpert Carba-R jest przeznaczony do stosowania z następującymi rodzajami próbek:

Czyste kolonie bakteryjne

Test jest wykonywany na czystych koloniach niewrażliwych na karbapenemy bakterii *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* lub *Pseudomonas aeruginosa*, w przypadku wzrostu na agarze z krwią lub agarze MacConkey'a. W przypadku badania czystych kolonii test Xpert Carba-R powinien być stosowany w połączeniu z innymi badaniami laboratoryjnymi, w tym z badaniem fenotypowej wrażliwości drobnoustrojów.

Wykrycie genu metalo-beta-laktamazy *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} lub *bla*_{VIM} (tj. genów kodujących odpowiednio metalo-beta-laktamazy IMP, NDM i VIM) może stanowić pomoc dla klinicystów w określaniu odpowiednich strategii leczenia pacjentów z potwierdzonymi lub podejrzanymi zakażeniami bakteriami niewrażliwymi na karbapenemy.

Próbki wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych

Badanie jest wykonywane na próbkach wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych pobieranych od pacjentów, u których występuje ryzyko kolonizacji jelit przez bakterie niewrażliwe na karbapenemy. Jednoczesne hodowle są konieczne do wzrostu drobnoustrojów w celu typowania epidemiologicznego, badania wrażliwości drobnoustrojów oraz dalszej identyfikacji potwierdzającej bakterii.

Test Xpert Carba-R, wykonywany na próbkach wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych, nie jest przeznaczony do prowadzenia lub monitorowania leczenia zakażeń bakteriami niewrażliwymi na karbapenemy ani do wykrywania zakażeń spowodowanych przez bakterie niewrażliwe na karbapenemy.

4 Podsumowanie i objaśnienie

Globalne rozprzestrzenienie się gatunków *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* wytwarzających karbapenemazy (tj. drobnoustrojów niewrażliwych na karbapenemy, CNSO) jest krytycznym problemem w zakresie medycyny i zdrowia publicznego.^{1,2} Te bakterie są często odporne na wszystkie środki beta-laktamowe i często równocześnie odporne na wiele klas innych środków przeciwbakteryjnych, co pozostawia bardzo niewiele opcji leczenia.³ Monitorowanie rozprzestrzeniania się drobnoustrojów CNSO jest utrudnione przez różnorodność pojawiających się enzymów hydrolizujących karbapenemy oraz możliwość rozprzestrzeniania się genów w różnych gatunkach bakterii. Niektóre geny oporności, takie jak u *Klebsiella pneumoniae*, warunkujące produkcję karbapenemazy typu KPC, są powiązane z rozpowszechnionymi liniami klonalnymi bakterii (np. *K. pneumoniae* ST258),⁴ mającymi selektywną przewagę w środowiskach szpitalnych, w których stosowanie środków przeciwbakteryjnych jest częste. Możliwość przenoszenia drobnoustrojów są zwykle częste, wraz z dalszym rozprzestrzenianiem się genów oporności za pośrednictwem przekazywalnych plazmidów i integronów. *K. pneumoniae* szczep ST258 odpowiada za wiele epidemii na świecie, szczególnie w Stanach Zjednoczonych¹ i Izraelu.⁵ Podobnie drobnoustroje zawierające gen kodujący metalo-beta-laktamazę New Delhi (NDM) zostały przeniesione do Europy przez osoby, które w wielu przypadkach odwiedzały Indie lub Pakistan.⁶ Trzeci mechanizm oporności na karbapenemy, związany z metalo-

beta-laktamazą kodowaną przez integron Verona (VIM), od kilku lat stanowi problem w Europie. Inne metalo-beta-laktamazy, np. klasy IMP (imipenemazy), były od wielu lat rozpoznawane w Japonii i innych krajach Azji, a teraz rozprzestrzeniają się globalnie.³ Ponadto oksacylinaza klasy D, OXA-48, która często koduje niskopoziomową oporność na karbapenemy, szybko rozprzestrzenia się teraz w Europie.^{7,8}

Obecnie standardową metodą wykrywania pacjentów, którzy zostali skolonizowani przez drobnoustroje niewrażliwe na karbapenemy, jest hodowla próbek wymazów z odbyticy lub wymazów okołoodbytniczych na płytkach z agarem selektywnym dla bakterii Gram-ujemnych, takim jak agar MacConkey'a, a następnie wykonywanie badań wrażliwości drobnoustrojów kolonii fermentujących laktozę, albo zastosowanie podłoża z agarem selektywnym.⁹ Pierwsza metoda jest pracochłonna i uzyskanie końcowych wyników może trwać kilka dni, podczas gdy druga metoda cechuje się dużą zmiennością w zakresie czułości i swoistości, zależnie od użytego podłoża selektywnego.

Szybka i dokładna metoda określania, czy próbka wymazu z odbyticy lub wymazu okołoodbytniczego bądź izolat bakterii niewrażliwej na karbapenemy zawiera jedną z tych pięciu powszechnych klas genów oporności na karbapenemy stanowiłaby istotną pomoc w programach kontroli zakażeń, szczególnie podczas epidemii, ponieważ umożliwia ona: 1) identyfikowanie genu oporności swoistej obecnego w drobnoustroju i 2) odróżnianie drobnoustrojów z najbardziej powszechnymi przenoszalnymi genami oporności na karbapenemy kodującymi karbapenemazy od drobnoustrojów, które są odporne z powodu obecności innych beta-laktamaz i/lub zmian w ścianie komórkowej drobnoustroju, które nie muszą wymagać stosowania wobec pacjenta środków ostrożności w zakresie kontaktu.

Trudności terapeutyczne związane z bakteriami Enterobacteriaceae opornymi na karbapenemy przyczyniły się do zwiększenia świadomości potrzeby szybkiego wykrywania i wdrożenia skutecznych środków mających na celu zapobieganie rozprzestrzenianiu się i przenoszeniu zakażenia. Środki przeciwbakteryjne, takie jak nowe kombinacje antybiotyków beta-laktamowych / inhibitorów beta-laktamaz, są w różnym stopniu aktywne przeciwko bakteriom wytwarzającym różne typy beta-laktamaz. Wyniki testów Xpert Carba-R wykazujące obecność genów metalo-beta-laktamaz bla_{IMP} , bla_{VIM} i bla_{NDM} w przypadku czystych kolonii bakteryjnych mogą być pomocne w określaniu strategii leczenia obejmującej kombinacje antybiotyków beta-laktamowych / inhibitorów beta-laktamaz.^{10,11,12,13,14}

5 Zasada procedury

Aparaty GeneXpert automatyzują i integrują przygotowanie próbki, ekstrakcję i amplifikowanie kwasu nukleinowego oraz wykrywanie sekwencji docelowej w próbkach prostych lub złożonych przy pomocy testów real-time PCR. Systemy składają się z aparatu, komputera oraz wstępnie zainstalowanego oprogramowania umożliwiających wykonywanie badań i wyświetlanie wyników. Systemy wymagają stosowania jednorazowych kartridży, które zawierają odczynniki do reakcji PCR oraz w których odbywa się reakcja PCR. Ponieważ kartridże są samowystarczalne, ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami jest zminimalizowane. Pełny opis systemów można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*.

Test Xpert Carba-R zawiera odczynniki umożliwiające wykrywanie sekwencji genów bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} i bla_{IMP} , a także kontrolę przetwarzania próbki (SPC), która służy do kontrolowania prawidłowości przetwarzania badanych bakterii oraz do monitorowania obecności substancji powodujących zahamowanie reakcji PCR. Kontrola SPC umożliwia także upewnienie się, że warunki reakcji PCR (temperatura i czas) są odpowiednie dla reakcji amplifikacji oraz że odczynniki do reakcji PCR działają poprawnie. Dodatkowa kontrola wewnętrzna, kontrola sondy (PCC), weryfikuje nawadnianie odczynników, napełnienie próbki do PCR w kartridżu, integralność sondy i stabilność barwnika.

Startery i sondy testu Xpert Carba-R wykrywają własnościowe sekwencje genów bla_{KPC} (KPC), bla_{NDM} (NDM), bla_{VIM} (VIM), bla_{OXA-48} (OXA-48) i bla_{IMP} (IMP) związane z niewrażliwością na karbapenemy u bakterii Gram-ujemnych.

6 Odczynniki i aparaty

6.1 Materiały dostarczone



Zestaw testu Xpert Carba-R (GXCARBARP-CE-10) zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 próbek, a zestaw testu Xpert Carba-R (GXCARBARP-CE-120) zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 120 próbek. Zestawy zawierają następujące elementy:

Kartridże testu Xpert Carba-R ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi

	10	120
• Kulka 1, kulka 2 i kulka 3 (liofilizowane)	Po 1 na kartridż	Po 1 na kartridż
• Odczynnik 1	3 ml na kartridż	3 ml na kartridż
• Odczynnik 2 (chlorek guanidyny)	2,5 ml na kartridż	2,5 ml na kartridż

Fiolki z odczynnikiem do próbek testu Xpert Carba-R	10	120
• Odczynnik do próbek	5,0 ml na fiolkę	5,0 ml na fiolkę
Jednorazowe pipety transferowe (1,7 ml)	10	120
Płyta CD	1	1
• Pliki definicji testu (ADF)		
• Instrukcja importowania pliku ADF do oprogramowania		
• Instrukcja użycia (ulotka informacyjna)		

Uwaga

Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS) są dostępne na stronie internetowej www.cepheid.com lub www.cepheidinternational.com na karcie **WSPARCIE (SUPPORT)**.

Uwaga

Albumina surowicy bydłowej (BSA) zawarta w kulkach w tym produkcie została uzyskana i wytworzona wyłącznie z osocza wołowego pochodzącego z USA. Zwierząt nie karmiono białkiem pochodzącym od przeżuwaczy ani białkiem pochodzącym od innych zwierząt; zwierzęta przebadano zarówno przed ubojem, jak i po nim. Podczas przetwarzania nie nastąpiło wymieszanie materiału z innymi materiałami pochodzącymi od zwierząt.

6.2 Przechowywanie i obsługa

- Kartridże testu Xpert Carba-R należy przechowywać w temperaturze 2–28 °C.
- Wieczko kartridża można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania badania.



- Nie używać odczynników lub kartridży po upływie daty ważności.
- Odczynnik do próbek to przezroczysty, bezbarwny płyn. Nie używać odczynnika do próbek, który uległ zmętnieniu lub przebarwieniu.
- Kartridża należy użyć w ciągu 30 minut od momentu otwarcia wieczka kartridża.
- Nie używać nieszczelnego kartridża, który przecieka.

6.3 Materiały wymagane, ale niedostarczone

- Aparat GeneXpert Dx lub system GeneXpert Infinity (numer katalogowy zależy od konfiguracji): aparat GeneXpert, komputer, skaner kodów kreskowych, instrukcja obsługi.
 - W przypadku systemu GeneXpert Dx: oprogramowanie GeneXpert Dx w wersji 4.3 lub nowszej
- System do pobierania próbek: Numer katalogowy firmy Cepheid 900-0370
- Agar z krwią (np. agar Remel™ Blood Agar: numer katalogowy R01200 lub odpowiednik)
- Agar MacConkey'a (np. agar Remel™ MacConkey Agar: numer katalogowy R01550 lub odpowiednik)
- Krążki z meropenemem 10 µg (np. BD BBL™ Sensi-Disc™ Antimicrobial Susceptibility Test Discs, Meropenem, numer katalogowy 231704 lub odpowiednik)
- Sterylne kleszczyki
- Sterylne jednorazowe ezy 10 µl (np. Copan: numer katalogowy COPS-10 lub Hardy Diagnostics: numer katalogowy L2002A lub odpowiednik)
- Wyrząsarka typu vortex
- Drukarka: jeśli wymagana jest drukarka, informacji o zakupie zalecanej drukarki udzieli Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid.

7 Ostrzeżenia i środki ostrożności


- Do diagnostyki *in vitro*.
- Do użytku wyłącznie na zlecenie lekarza.



- Wszystkie próbki biologiczne, w tym użyte kartridże, należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne. Ponieważ często niemożliwe jest określenie, która z próbek biologicznych może być zakaźna, wszystkie należy obsługiwać z zachowaniem standardowych środków ostrożności. Wytyczne dotyczące obsługi próbek można uzyskać w amerykańskiej agencji Centers for Disease Control and Prevention^{15,16} oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute.¹⁷

- Przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i obsługi próbek biologicznych / płytek z agarem z czystymi koloniami.
- Próbkę biologiczną, wyroby do przenoszenia i użyte kartridże należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne i wymagające zachowania standardowych środków ostrożności. Należy przestrzegać obowiązujących w placówce procedur dotyczących odpadów środowiskowych w zakresie odpowiedniego usuwania użytych kartridży i nieużytych odczynników. Te materiały mogą stanowić niebezpieczne odpady chemiczne, których usuwanie musi się odbywać zgodnie z krajowymi lub regionalnymi przepisami dotyczącymi usuwania. Jeśli krajowe lub regionalne przepisy nie regulują kwestii dotyczących odpowiedniego usuwania, wówczas próbki biologiczne i użyte kartridże należy usuwać zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia próbek lub odczynników zalecane jest przestrzeganie dobrych praktyk laboratoryjnych, w tym zmienianie rękawiczek między czynnościami obsługi próbek.
- Nie wolno zastępować odczynnika do próbek testu Xpert Carba-R innymi odczynnikami.
- Wieczko kartridża testu Xpert Carba-R można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do dodania próbki.
- Nie używać kartridża, który upadł po wyjęciu z opakowania.
- Nie wolno potrząsać kartridżem. Potrząsanie kartridżem lub jego upuszczenie po otwarciu wieczka kartridża może prowadzić do uzyskania nieważnych wyników.
- Nie umieszczać etykiety z identyfikatorem próbki na wieczku kartridża ani na etykiecie z kodem kreskowym.
- ② • Każdy jednorazowy kartridż testu Xpert Carba-R służy do wykonania jednego badania. Nie używać ponownie zużytych kartridży.
- Nie używać kartridża, jeśli jego komora reakcyjna jest uszkodzona.
- Stosować czyste fartuchy laboratoryjne i rękawiczki. Zmieniać rękawiczki między przetwarzaniem każdej próbki.
- W przypadku zanieczyszczenia obszaru roboczego lub sprzętu próbkami lub kontrolami zanieczyszczony obszar należy dokładnie wyczyścić przy pomocy roztworu wybielacza chlorowego w stosunku 1:10, a następnie należy ponownie wyczyścić obszar roboczy przy pomocy 70% etanolu. Przed kontynuowaniem pracy powierzchnie robocze należy wytrzeć całkowicie do sucha.

8 Zagrożenia chemiczne^{18,19}

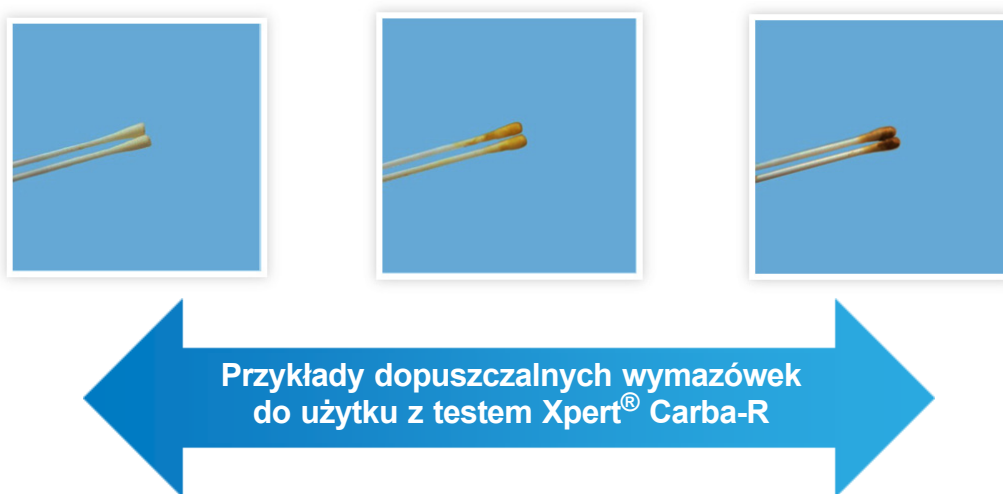
- Piktogramy GHS ONZ określające rodzaj zagrożenia: 
- Hasło ostrzegawcze: OSTRZEŻENIE
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące środki ostrożności**
 - **Zapobieganie**
 - Dokładnie umyć po użyciu.
 - Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
 - **Reagowanie**
 - W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem.
 - Zastosować określone instrukcje (patrz informacje uzupełniające dotyczące pierwszej pomocy).
 - Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.
 - W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.
 - W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.

9 Przygotowanie i przechowywanie próbek

Próbki wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych:

W przypadku używania wymazów patrz Punkt 6.3, Materiały wymagane, ale niedostarczone.

- Pobranie pary wymazów z odbytnicy: Ostrożnie włożyć końcówki obu wymazówek na głębokość około 1 cm poza zwieracz odbytu i delikatnie nimi obrócić. Punkt „Materiały wymagane, ale niedostarczone” zawiera informacje na temat wymazówek, których należy używać, a Ilustracja 1 i Ilustracja 2 przedstawiają przykłady dopuszczalnych i niedopuszczalnych wymazów do użycia z testem Xpert Carba-R.
- Pobranie pary wymazów okołodbytnicznych: Ostrożnie włożyć końcówki obu wymazówek na głębokość nie większą niż 1 cm do odbytu przed zwieraczem odbytu i delikatnie nimi obrócić.
- Wymazówki w probówce transportowej można przechowywać w temperaturze 15–28 °C przez maksymalnie pięć dni.
- Ilustracja 1 poniżej przedstawia przykłady dopuszczalnych próbek wymazów do użycia z testem Xpert Carba-R, a Ilustracja 2 przedstawia przykłady bardzo zanieczyszczonych próbek wymazów, których nie należy używać z testem Xpert Carba-R.



Ilustracja 1. Przykłady dopuszczalnych próbek wymazów do użycia z testem Xpert Carba-R



Ilustracja 2. Przykłady niedopuszczalnych próbek wymazów do użycia z testem Xpert Carba-R

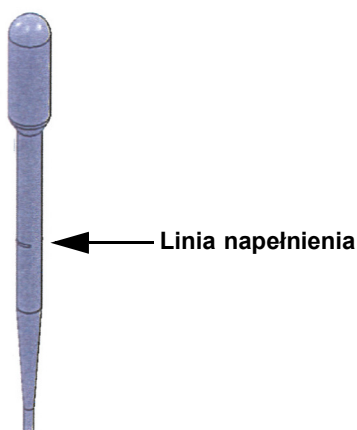
Izolaty bakterii:

1. Przed rozpoczęciem testu Xpert Carba-R należy zidentyfikować drobnoustroje i określić stan niewrażliwości na karbapenemy zgodnie z bieżącą ulotką informacyjną zatwierdzoną przez agencję FDA oraz aktualną wersją wytycznych M100²⁰ organizacji CLSI.
2. Posiać drobnoustroje na płytkę z agarem z krwią albo z agarem MacConkey'a, wykonać posiew redukcyjny w celu izolacji, a następnie umieścić krążek z meropenemem 10 µg w pierwszym kwadrancie posiewu, tak aby izolat zachował swoją niewrażliwość na karbapenemy.
3. Inkubować płytkę w temperaturze 35 °C przez 18–24 godziny w powietrzu atmosferycznym.
4. Użyć metody zawiesiny kolonii bezpośredniej, dotykając wyizolowanych kolonii wymazówką lub eżą w celu przygotowania zawiesiny 0,5 jednostki w skali McFarlanda izolatu bakterii, zgodnie z instrukcjami podanymi w zatwierdzonym standardzie M07²¹ organizacji CLSI. Kroki opisano również poniżej.
 - A. Wykonać zawiesinę wyizolowanych kolonii wybranych z płytki z agarem (np. nieselektywnego podłoża, takiego jak agar z krwią inkubowany przez 18–24 godziny) bezpośrednio w bulionie lub soli fizjologicznej.
 - B. Dostosować zawiesinę w celu uzyskania zmętnienia odpowiadającego standardowi 0,5 jednostki w skali McFarlanda. Dzięki temu powstanie zawiesina zawierająca około $1-2 \times 10^8$ CFU/ml bakterii *E. coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922.
 - C. Użyć urządzenia fotometrycznego lub, w przypadku badania wzrokowego, użyć odpowiedniego światła do porównania próbki z posiewem i standardu 0,5 jednostki w skali McFarlanda z kartą z białym tłem i kontrastującymi czarnymi liniami.

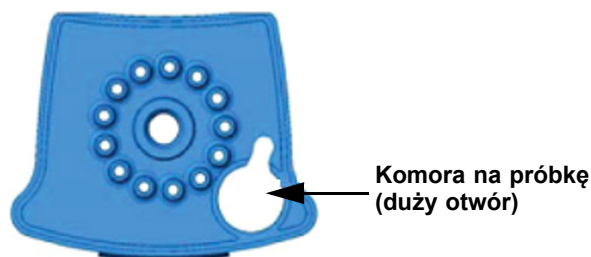
10 Procedura**10.1 Przygotowywanie kartridża**

Ważne	Umieścić kartridż w aparacie GeneXpert w ciągu 30 minut od momentu dodania próbki do kartridża.
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Wyjąć kartridż testu Xpert Carba-R, fiolkę z odczynnikami do próbek i pipetę transferową z zestawu. Otworzyć fiolkę z odczynnikami do próbek. 2. Aby dodać próbkę do kartridża: <ul style="list-style-type: none"> • Aby dodać próbkę wymazu do kartridża w przypadku próbki wymazu z odbytnicy lub wymazu okołodobytniczego: <ul style="list-style-type: none"> • Z pary wymazów umieścić jedną wymazówkę w fiolce z odczynnikami do próbek. Umieścić nieużytą wymazówkę w próbówce transportowej i przechowywać.
Uwaga	Informacje dotyczące warunków przechowywania próbek wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodobytnicznych zawiera Punkt 9. Pozostała druga wymazówka może służyć do powtórzenia badania.
Uwaga	Informacje dotyczące powtórzenia badania z użyciem próbek wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodobytnicznych zawiera Punkt 14, Procedura powtórzenia badania. <ul style="list-style-type: none"> • Trzymając wymazówkę za trzon blisko krawędzi fiolki, unieść wymazówkę na wysokość kilku milimetrów od dna fiolki i zagiąć trzon na krawędzi fiolki w celu jego złamania w oznaczonym miejscu; pozostała część wymazówki powinna być wystarczająco krótka, aby się zmieścić w fiolce i umożliwić szczelne zamknięcie zatyczki. • Aby dodać zawiesinę 0,5 jednostki w skali McFarlanda izolatu do kartridża w przypadku izolatów bakterii: <ul style="list-style-type: none"> • Wymieszać na wstrząsarce typu vortex zawiesinę 0,5 jednostki w skali McFarlanda. Przy pomocy eży 10 µl przenieść 10 µl zawiesiny 0,5 jednostki w skali McFarlanda do 5 ml fiolki z odczynnikami do próbek. Obrócić eżę co najmniej trzy razy w odczynniku do próbek. Po pierwszym badaniu pozostałość próbki w fiolce z odczynnikami do próbek można przechowywać w temperaturze 2–28 °C przez maksymalnie pięć dni na wypadek konieczności powtórzenia badania.
Uwaga	Informacje dotyczące powtórzenia badania z użyciem próbek izolatów bakterii zawiera Punkt 14, Procedura powtórzenia badania.
Uwaga	Upewnić się, że eża 10 µl jest napełniona próbka oraz że zawiesina próbki w eży nie pęknie podczas przenoszenia zawiesiny 0,5 jednostki w skali McFarlanda do odczynnika do próbek.

3. Szczelnie zamknąć zatyczkę fiolki z odczynnikami do próbek i mieszać na wytrząsarce typu vortex przy wysokiej prędkości przez 10 sekund.
4. Otworzyć wieczko kartridża. Otworzyć zatyczkę fiolki z odczynnikami do próbek. Przy pomocy dostarczonej pipety transferowej zaaspirować przygotowaną próbkę (odczynnik do próbek zawierający próbkę z Krok 2) do linii na pipecie (która oznacza około 1,7 ml; patrz Ilustracja 3), a następnie przenieść materiał do dużego otworu komory na próbkę (patrz Ilustracja 4) kartridża testu Xpert Carba-R.
5. Zamknąć wieczko kartridża i umieścić kartridż w aparacie GeneXpert w ciągu 30 minut od momentu dodania próbki do kartridża.



Ilustracja 3. Pipeta transferowa umożliwiająca przeniesienie próbki do kartridża



Ilustracja 4. Kartridż testu Xpert Carba-R (widok z góry)

10.2 Rozpoczynanie badania

Ważne

Przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że plik definicji testu (ADF) Xpert Carba-R został zaimportowany do oprogramowania. Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*.

Uwaga

Wykonywane czynności mogą być inne, jeśli administrator systemu zmienił domyślny cykl pracy. Domyślny cykl pracy opisano poniżej.

1. Włączyć aparat GeneXpert:
 - W przypadku używania aparatu GeneXpert Dx najpierw włączyć aparat, a następnie włączyć komputer. Oprogramowanie GeneXpert zostanie uruchomione automatycznie lub może wymagać dwukrotnego kliknięcia ikony skrótu oprogramowania GeneXpert Dx na pulpicie systemu Windows®.
 - lub
 - W przypadku używania aparatu GeneXpert Infinity, włączyć aparat. Oprogramowanie Xpertise zostanie uruchomione automatycznie lub może wymagać dwukrotnego kliknięcia ikony skrótu oprogramowania Xpertise na pulpicie systemu Windows.
2. Zalogować się do oprogramowania aparatu GeneXpert, podając nazwę użytkownika i hasło.

3. W oknie systemu GeneXpert kliknąć **Nowe badanie (Create Test)** (GeneXpert Dx) lub kliknąć **Zlecenia (Orders)** i **Zleć badanie (Order Test)** (Infinity).
4. Zeskanować Identyfikator pacjenta (Patient ID) (opcjonalnie). W przypadku wpisywania Identyfikatora pacjenta (Patient ID) upewnić się, że Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie Wyświetlanie wyników (View Results).
5. Zeskanować lub wpisać Identyfikator próbki (Sample ID). W przypadku wpisywania Identyfikatora próbki (Sample ID) upewnić się, że Identyfikator próbki (Sample ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator próbki (Sample ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie Wyświetlanie wyników (View Results).
6. Zeskanować kod kreskowy na kartridżu testu Xpert Carba-R. Na podstawie informacji zawartych w kodzie kreskowym oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola: Wybór testu (Select Assay), Identyfikator serii odczynników (Reagent Lot ID), Numer seryjny kartridża (Cartridge SN) i Data ważności (Expiration Date).

Uwaga Jeśli nie można zeskanować kodu kreskowego na kartridżu testu Xpert Carba-R, wówczas należy przygotować nowe badanie z użyciem procedury powtórzenia badania, której opis zawiera Punkt 14.

7. Kliknąć **Rozpocznij badanie (Start Test)** (GeneXpert Dx) lub **Prześlij (Submit)** (Infinity). W razie potrzeby wpisać hasło.
8. W przypadku systemu GeneXpert Infinity umieścić kartridż na taśmie transportowej. Kartridż zostanie załadowany automatycznie, rozpocznie się badanie, a użyty kartridż zostanie umieszczony w pojemniku na odpady.

lub

W przypadku aparatu GeneXpert Dx:

- A. Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną kontrolką i załadować kartridż.
- B. Zamknąć drzwiczki. Badanie zostanie rozpoczęte, a zielona kontrolka przestanie migać. Po zakończeniu badania kontrolka przestanie świecić.
- C. Poczeekać, aż system zwolni blokadę drzwiczek, a następnie otworzyć drzwiczki modułu. Wyjąć kartridż.
- D. Wyrzucić użyte kartridże do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

10.3 Wyświetlanie i drukowanie wyników

Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wyświetlanie i drukowanie wyników. Szczegółowe instrukcje dotyczące wyświetlania i drukowania wyników można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*.

1. Kliknąć ikonę **Wyświetl wyniki (View Results)**, aby wyświetlić wyniki.
2. Po zakończeniu badania kliknąć przycisk Raport (Report) w oknie Wyświetlanie wyników (View Results), aby wyświetlić i/ lub utworzyć plik PDF z raportem.

11 Kontrola jakości

CONTROL Wbudowane kontrole jakości

Każdy test zawiera kontrolę przetwarzania próbki oraz kontrolę sondy.

- **Kontrola przetwarzania próbki (SPC)** — pozwala się upewnić, że próbkę przetworzono prawidłowo. SPC zawiera przetrwalniki bakterii *Bacillus globigii* w postaci suchej kulki, która jest umieszczona w każdym kartridżu i umożliwia weryfikację prawidłowości przetwarzania badanej próbki. Kontrola SPC weryfikuje, czy w przypadku obecności drobnoustrojów nastąpiła liza bakterii oraz czy przetwarzanie próbki jest prawidłowe. Ponadto ta kontrola wykrywa hamowanie reakcji real-time PCR związane z próbką, a także umożliwia upewnienie się, że warunki reakcji PCR (temperatura i czas) są odpowiednie dla reakcji amplifikacji oraz że odczynniki do reakcji PCR działają poprawnie. Wynik kontroli SPC powinien być dodatni w próbce ujemnej i może być ujemny lub dodatni w próbce dodatniej. Kontrola SPC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni zatwierdzone kryteria akceptacji.
- **Kontrola sondy (PCC)** — przed rozpoczęciem reakcji PCR system GeneXpert mierzy sygnał fluorescencji z sond w celu monitorowania nawadniania kulek, napełnienia komory reakcyjnej, integralności sondy i stabilności barwnika. Kontrola sondy sprawdza, czy są spełnione przypisane kryteria akceptacji.

Kontrole zewnętrzne

Kontroli zewnętrznych można używać zgodnie ze stosownymi wymaganiami lokalnych, regionalnych i krajowych organizacji akredytacyjnych.

12 Interpretacja wyników

Wyniki są interpretowane przez system GeneXpert na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencji i wbudowanych algorytmów obliczeniowych, a następnie wyświetlane w oknie Wyświetlanie wyników (View Results). Nie przedstawiono zrzutów ekranu ani interpretacji dla wszystkich możliwych kombinacji wyników pod kątem pięciu sekwencji docelowych z użyciem testu Xpert Carba-R, a jedynie wskazano przykłady wyników, które można uzyskać.

Uwaga Poniższa tabela i ilustracje przedstawiają tylko przykłady rodzajów wyników, które można uzyskać z użyciem testu Xpert Carba-R. Nie przedstawiono wszystkich możliwych kombinacji wyników pod kątem pięciu sekwencji docelowych.

Tabela 1. Przykładowe wyniki testu Xpert Carba-R i ich interpretacja

Wynik	Interpretacja
WYKRYTO IMP (IMP DETECTED); NIE WYKRYTO VIM (VIM NOT DETECTED); NIE WYKRYTO NDM (NDM NOT DETECTED); NIE WYKRYTO KPC (KPC NOT DETECTED); NIE WYKRYTO OXA48 (OXA48 NOT DETECTED) Patrz Ilustracja 5.	Została wykryta sekwencja docelowa DNA genu IMP; nie zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów VIM, NDM, KPC i OXA-48. <ul style="list-style-type: none"> Wartość Ct amplifikacji PCR sekwencji docelowej DNA genu IMP mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy fluorescencji znajduje się powyżej ustawienia progu; sekwencje docelowe DNA genów VIM, NDM, KPC i OXA-48 nie występują lub występują w ilości poniżej granicy wykrywalności testu. SPC: Nie dotyczy. Kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowej DNA genu IMP może konkurować z tą kontrolą. PCC: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne. Strategie leczenia obejmujące środki przeciwbakteryjne, takie jak kombinacje antybiotyków beta-laktamowych / inhibitorów beta-laktamaz z ograniczoną aktywnością lub bez aktywności przeciwko bakteriom wytwarzającym metalo-beta-laktamazy, powinny być stosowane z zachowaniem ostrożności. Wyniki testów Xpert Carba-R wykazujące obecność genów metalo-beta-laktamaz <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} i <i>bla</i>_{NDM} w przypadku czystych kolonii bakteryjnych mogą być pomocne w określaniu strategii leczenia pacjentów z potwierdzonymi lub podejrzanymi zakażeniami bakteriami niewrażliwymi na karbapenemy.
NIE WYKRYTO IMP (IMP NOT DETECTED); WYKRYTO VIM (VIM DETECTED); NIE WYKRYTO NDM (NDM NOT DETECTED); NIE WYKRYTO KPC (KPC NOT DETECTED); NIE WYKRYTO OXA48 (OXA48 NOT DETECTED) Patrz Ilustracja 6.	Została wykryta sekwencja docelowa DNA genu VIM; nie zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów IMP, NDM, KPC i OXA-48. <ul style="list-style-type: none"> Wartość Ct amplifikacji PCR sekwencji docelowej DNA genu VIM mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy fluorescencji znajduje się powyżej ustawienia progu; sekwencje docelowe DNA genów IMP, NDM, KPC i OXA-48 nie występują lub występują w ilości poniżej granicy wykrywalności testu. SPC: Nie dotyczy. Kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowej DNA genu VIM może konkurować z tą kontrolą. PCC: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne. Strategie leczenia obejmujące środki przeciwbakteryjne, takie jak kombinacje antybiotyków beta-laktamowych / inhibitorów beta-laktamaz z ograniczoną aktywnością lub bez aktywności przeciwko bakteriom wytwarzającym metalo-beta-laktamazy, powinny być stosowane z zachowaniem ostrożności. Wyniki testów Xpert Carba-R wykazujące obecność genów metalo-beta-laktamaz <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} i <i>bla</i>_{NDM} w przypadku czystych kolonii bakteryjnych mogą być pomocne w określaniu strategii leczenia pacjentów z potwierdzonymi lub podejrzanymi zakażeniami bakteriami niewrażliwymi na karbapenemy.

Tabela 1. Przykładowe wyniki testu Xpert Carba-R i ich interpretacja (ciąg dalszy)

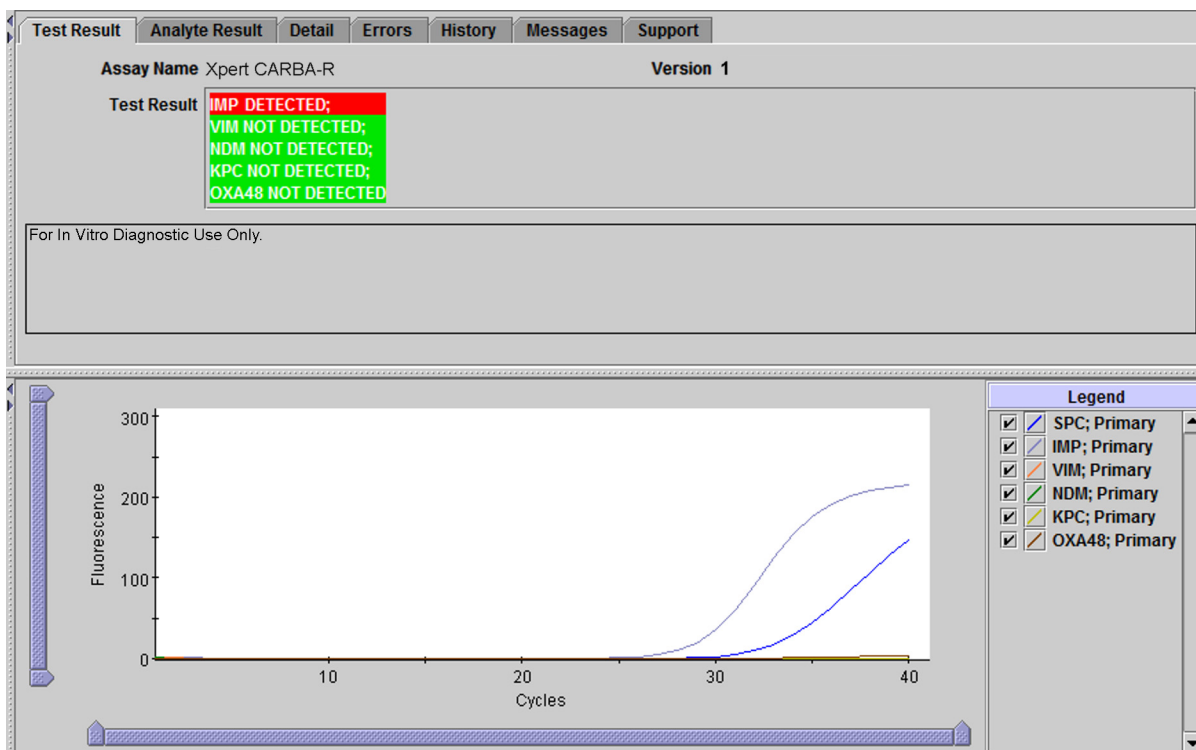
Wynik	Interpretacja
<p>NIE WYKRYTO IMP (IMP NOT DETECTED); WYKRYTO VIM (VIM DETECTED); WYKRYTO NDM (NDM DETECTED); NIE WYKRYTO KPC (KPC NOT DETECTED); NIE WYKRYTO OXA48 (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Patrz Ilustracja 7.</p>	<p>Zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów VIM i NDM; nie zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów IMP, KPC i OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Wartości Ct amplifikacji PCR sekwencji docelowych DNA genów VIM i NDM mieszczą się w prawidłowym zakresie, a punkty końcowe fluorescencji znajdują się powyżej ustawień progu; sekwencje docelowe DNA genów IMP, KPC i OXA-48 nie występują lub występują w ilości poniżej granicy wykrywalności testu. • SPC: Nie dotyczy. Kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowych DNA genów VIM i NDM może konkurować z tą kontrolą. • PCC: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne. • Strategie leczenia obejmujące środki przeciwbakteryjne, takie jak kombinacje antybiotyków beta-laktamowych / inhibitorów beta-laktamaz z ograniczoną aktywnością lub bez aktywności przeciwko bakteriom wytwarzającym metalo-beta-laktamazy, powinny być stosowane z zachowaniem ostrożności. Wyniki testów Xpert Carba-R wykazujące obecność genów metalo-beta-laktamaz <i>bla_{IMP}</i>, <i>bla_{VIM}</i> i <i>bla_{NDM}</i> w przypadku czystych kolonii bakteryjnych mogą być pomocne w określaniu strategii leczenia pacjentów z potwierdzonymi lub podejrzewanymi zakażeniami bakteriami niewrażliwymi na karbapenemy.
<p>WYKRYTO IMP (IMP DETECTED); NIE WYKRYTO VIM (VIM NOT DETECTED); WYKRYTO NDM (NDM DETECTED); NIE WYKRYTO KPC (KPC NOT DETECTED); NIE WYKRYTO OXA48 (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Patrz Ilustracja 8.</p>	<p>Zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów IMP i NDM; nie zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów VIM, KPC i OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Wartości Ct amplifikacji PCR sekwencji docelowych DNA genów IMP i NDM mieszczą się w prawidłowym zakresie, a punkty końcowe fluorescencji znajdują się powyżej ustawień progu; sekwencje docelowe DNA genów VIM, KPC i OXA-48 nie występują lub występują w ilości poniżej granicy wykrywalności testu. • SPC: Nie dotyczy. Kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowych DNA genów IMP i NDM może konkurować z tą kontrolą. • PCC: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne. • Strategie leczenia obejmujące środki przeciwbakteryjne, takie jak kombinacje antybiotyków beta-laktamowych / inhibitorów beta-laktamaz z ograniczoną aktywnością lub bez aktywności przeciwko bakteriom wytwarzającym metalo-beta-laktamazy, powinny być stosowane z zachowaniem ostrożności. Wyniki testów Xpert Carba-R wykazujące obecność genów metalo-beta-laktamaz <i>bla_{IMP}</i>, <i>bla_{VIM}</i> i <i>bla_{NDM}</i> w przypadku czystych kolonii bakteryjnych mogą być pomocne w określaniu strategii leczenia pacjentów z potwierdzonymi lub podejrzewanymi zakażeniami bakteriami niewrażliwymi na karbapenemy.
<p>WYKRYTO IMP (IMP DETECTED); WYKRYTO VIM (VIM DETECTED); NIE WYKRYTO NDM (NDM NOT DETECTED); NIE WYKRYTO KPC (KPC NOT DETECTED); WYKRYTO OXA48 (OXA48 DETECTED)</p> <p>Patrz Ilustracja 9.</p>	<p>Zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów IMP, VIM i OXA-48; nie zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów NDM i KPC.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Wartości Ct amplifikacji PCR sekwencji docelowych DNA genów IMP, VIM i OXA-48 mieszczą się w prawidłowym zakresie, a punkty końcowe fluorescencji znajdują się powyżej ustawień progu; sekwencje docelowe DNA genów KPC i NDM nie występują lub występują w ilości poniżej granicy wykrywalności testu. • SPC: Nie dotyczy. Kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowych DNA genów IMP, VIM i OXA-48 może konkurować z tą kontrolą. • PCC: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne. • Strategie leczenia obejmujące środki przeciwbakteryjne, takie jak kombinacje antybiotyków beta-laktamowych / inhibitorów beta-laktamaz z ograniczoną aktywnością lub bez aktywności przeciwko bakteriom wytwarzającym metalo-beta-laktamazy, powinny być stosowane z zachowaniem ostrożności. Wyniki testów Xpert Carba-R wykazujące obecność genów metalo-beta-laktamaz <i>bla_{IMP}</i>, <i>bla_{VIM}</i> i <i>bla_{NDM}</i> w przypadku czystych kolonii bakteryjnych mogą być pomocne w określaniu strategii leczenia pacjentów z potwierdzonymi lub podejrzewanymi zakażeniami bakteriami niewrażliwymi na karbapenemy.

Tabela 1. Przykładowe wyniki testu Xpert Carba-R i ich interpretacja (ciąg dalszy)

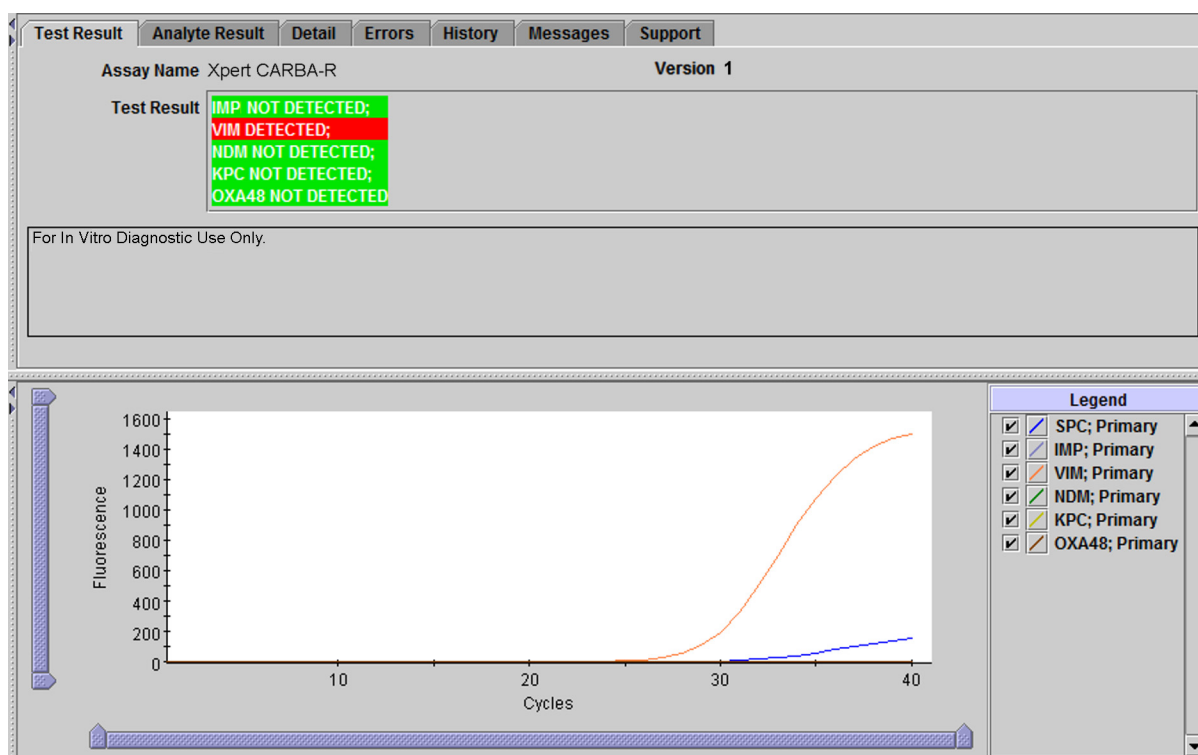
Wynik	Interpretacja
<p>WYKRYTO IMP (IMP DETECTED); WYKRYTO VIM (VIM DETECTED); WYKRYTO NDM (NDM DETECTED); NIE WYKRYTO KPC (KPC NOT DETECTED); WYKRYTO OXA48 (OXA48 DETECTED)</p> <p>Patrz Ilustracja 10.</p>	<p>Zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów IMP, VIM, NDM i OXA-48; nie została wykryta sekwencja docelowa DNA genu KPC.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Wartości Ct amplifikacji PCR sekwencji docelowych DNA genów IMP, VIM, NDM i OXA-48 mieszczą się w prawidłowym zakresie, a punkty końcowe fluorescencji znajdują się powyżej ustawień progów; sekwencja docelowa DNA genu KPC nie występuje lub występuje w ilości poniżej granicy wykrywalności testu. • SPC: Nie dotyczy. Kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowych DNA genów IMP, VIM, NDM i OXA-48 może konkurować z tą kontrolą. • PCC: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne. • Strategie leczenia obejmujące środki przeciwbakteryjne, takie jak kombinacje antybiotyków beta-laktamowych / inhibitorów beta-laktamaz z ograniczoną aktywnością lub bez aktywności przeciwko bakteriom wytwarzającym metalo-beta-laktamazy, powinny być stosowane z zachowaniem ostrożności. Wyniki testów Xpert Carba-R wykazujące obecność genów metalo-beta-laktamaz <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} i <i>bla</i>_{NDM} w przypadku czystych kolonii bakteryjnych mogą być pomocne w określaniu strategii leczenia pacjentów z potwierdzonymi lub podejrzanymi zakażeniami bakteriami niewrażliwymi na karbapenemy.
<p>WYKRYTO IMP (IMP DETECTED); WYKRYTO VIM (VIM DETECTED); WYKRYTO NDM (NDM DETECTED); WYKRYTO KPC (KPC DETECTED); WYKRYTO OXA48 (OXA48 DETECTED)</p> <p>Patrz Ilustracja 11.</p>	<p>Zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Wartości Ct amplifikacji PCR sekwencji docelowych DNA genów IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48 mieszczą się w prawidłowym zakresie, a punkty końcowe fluorescencji znajdują się powyżej ustawień progów. • SPC: Nie dotyczy. Kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowych DNA genów IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48 może konkurować z tą kontrolą. • PCC: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne. • Strategie leczenia obejmujące środki przeciwbakteryjne, takie jak kombinacje antybiotyków beta-laktamowych / inhibitorów beta-laktamaz z ograniczoną aktywnością lub bez aktywności przeciwko bakteriom wytwarzającym metalo-beta-laktamazy, powinny być stosowane z zachowaniem ostrożności. Wyniki testów Xpert Carba-R wykazujące obecność genów metalo-beta-laktamaz <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} i <i>bla</i>_{NDM} w przypadku czystych kolonii bakteryjnych mogą być pomocne w określaniu strategii leczenia pacjentów z potwierdzonymi lub podejrzanymi zakażeniami bakteriami niewrażliwymi na karbapenemy.
<p>NIE WYKRYTO IMP (IMP NOT DETECTED); NIE WYKRYTO VIM (VIM NOT DETECTED); NIE WYKRYTO NDM (NDM NOT DETECTED); NIE WYKRYTO KPC (KPC NOT DETECTED); NIE WYKRYTO OXA48 (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Patrz Ilustracja 12.</p>	<p>Nie zostały wykryte sekwencje docelowe DNA genów IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sekwencje docelowe DNA genów IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48 nie występują lub występują w ilości poniżej granicy wykrywalności testu. • SPC: POWODZENIE (PASS): wartość Ct amplifikacji PCR sekwencji docelowej DNA kontroli SPC mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy fluorescencji znajduje się powyżej ustawienia progów. • PCC: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.

Tabela 1. Przykładowe wyniki testu Xpert Carba-R i ich interpretacja (ciąg dalszy)

Wynik	Interpretacja
NIEWAŻNY (INVALID) Patrz Ilustracja 13.	Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowych DNA genów IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48. Powtórzyc badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera Punkt 14, Procedura powtórzenia badania. <ul style="list-style-type: none"> SPC: NIEPOWODZENIE (FAIL): brak amplifikacji PCR sekwencji docelowej DNA kontroli SPC lub wartość Ct amplifikacji PCR sekwencji docelowej DNA kontroli SPC nie mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy fluorescencji znajduje się poniżej ustawienia progu. PCC: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
BŁĄD (ERROR)	Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowych DNA genów IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48. Powtórzyc badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera Punkt 14, Procedura powtórzenia badania. <ul style="list-style-type: none"> SPC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) PCC: NIEPOWODZENIE (FAIL)*: co najmniej jeden wynik kontroli sondy był niezaliczony. Kontrola PCC prawdopodobnie się nie powiodła z powodu niewłaściwego napełnienia komory reakcyjnej lub wykrycia błędu dotyczącego integralności sondy. <p>* Jeśli kontrola sondy zakończyła się powodzeniem, błąd został spowodowany awarią elementu systemu.</p>
BRAK WYNIKU (NO RESULT)	Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowych DNA genów IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48. Powtórzyc badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera Punkt 14, Procedura powtórzenia badania. Nie można uzyskać wyniku badania z powodu zgromadzenia niewystarczających danych (taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku lub gdy nastąpiła awaria zasilania). <ul style="list-style-type: none"> SPC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) PCC: Nie dotyczy

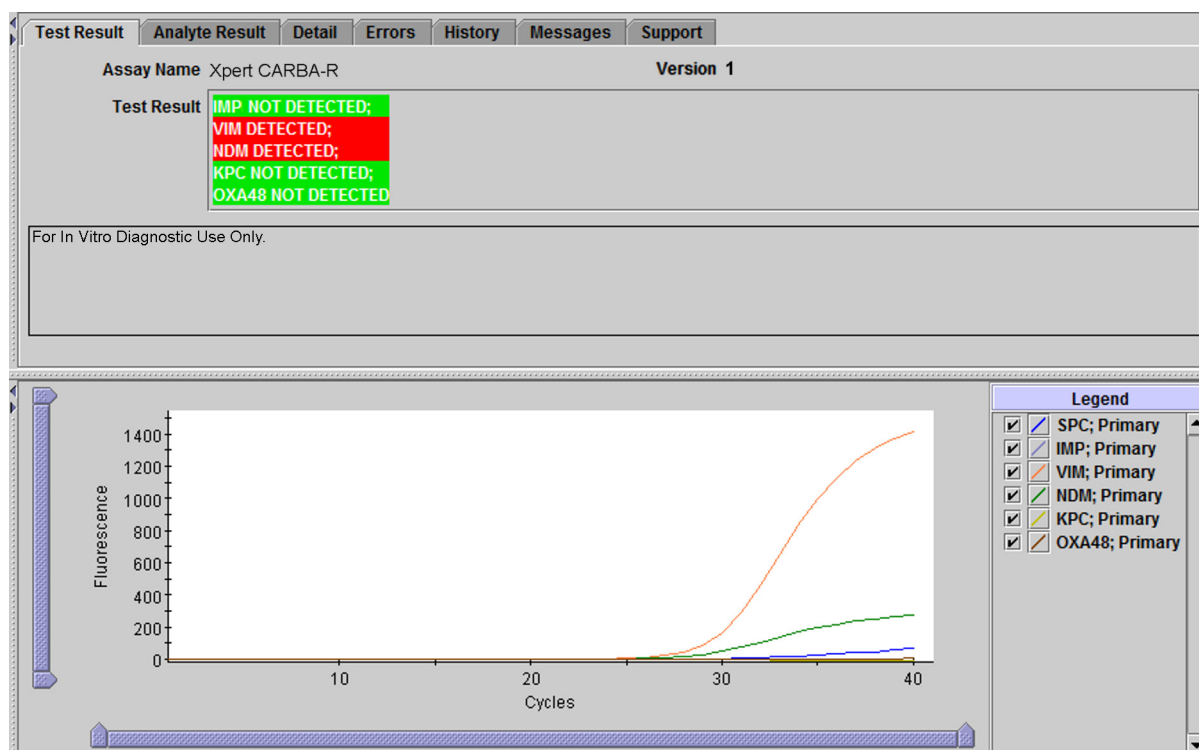


Ilustracja 5. Test Carba-R — wykryto IMP

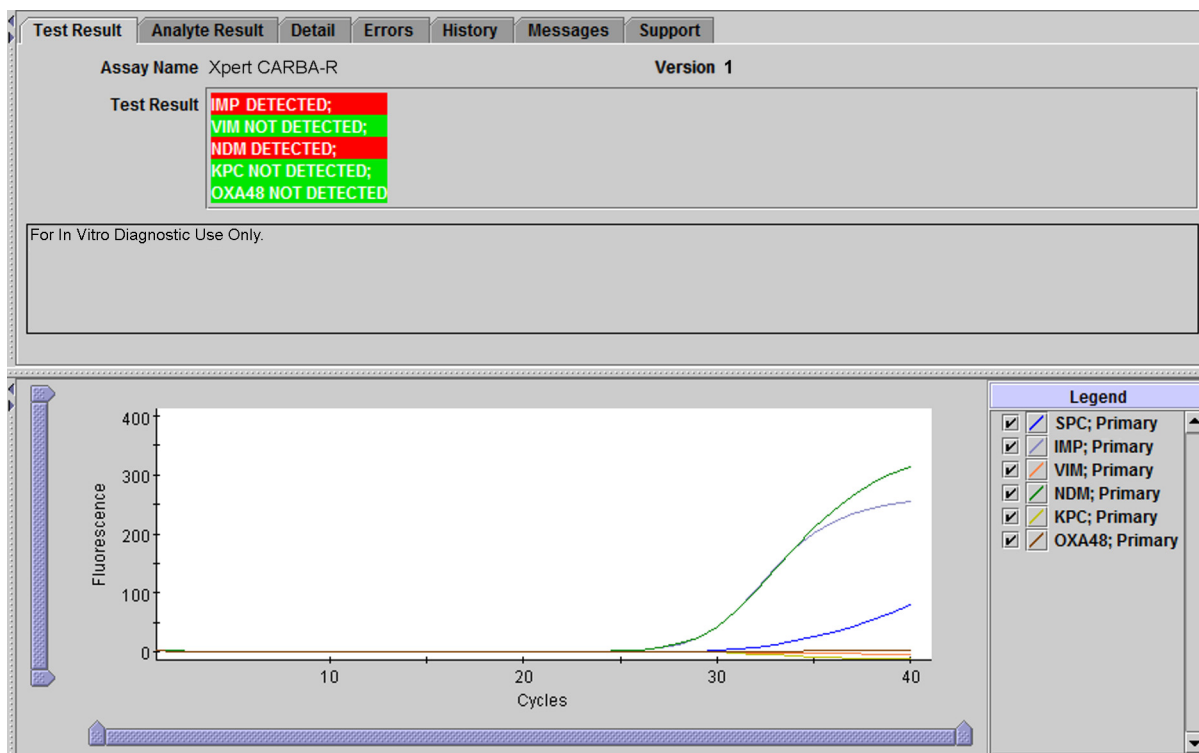


Ilustracja 6. Test Carba-R — wykryto VIM

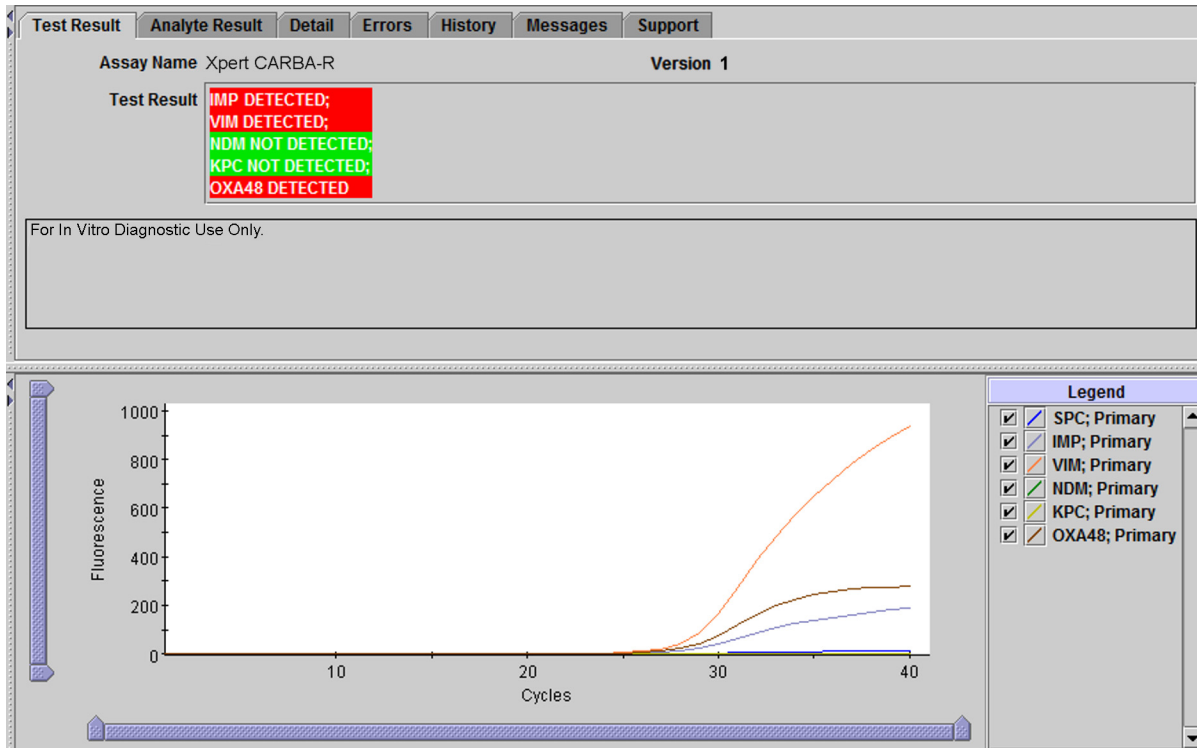
Uwaga Nie przedstawiono przykładów wyników dodatnich pod kątem genu NDM, KPC ani OXA.



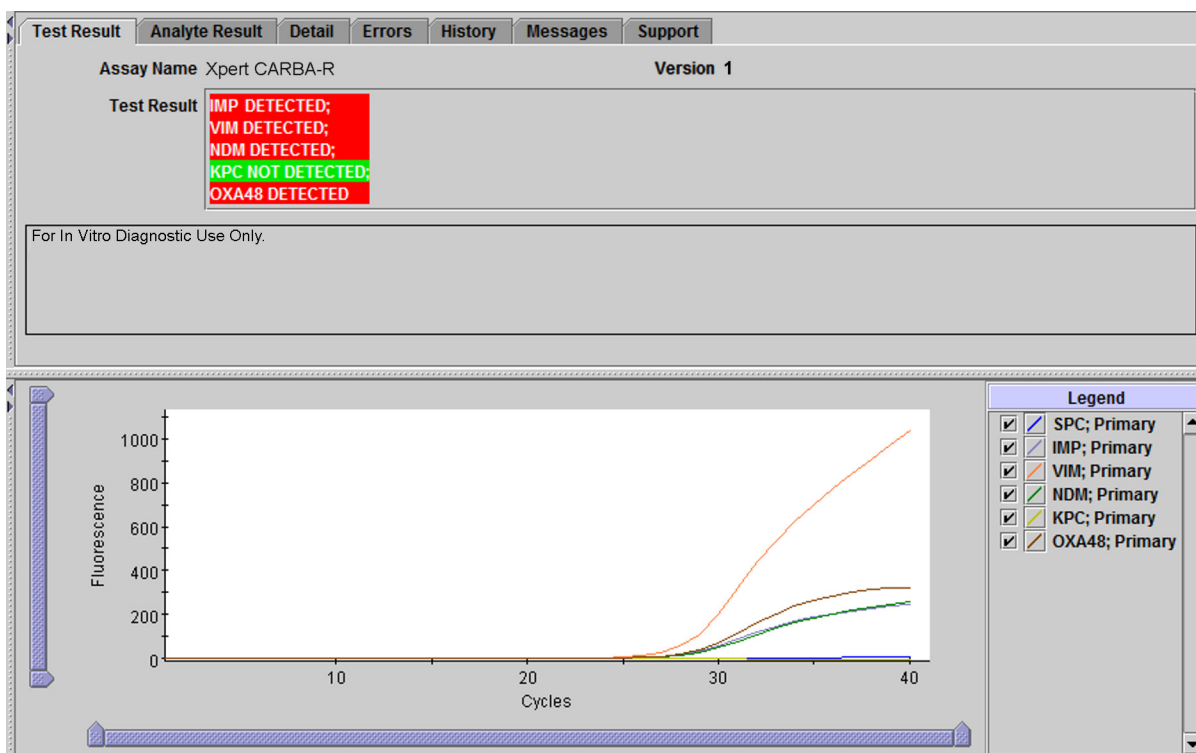
Ilustracja 7. Test Carba-R — wykryto VIM i NDM



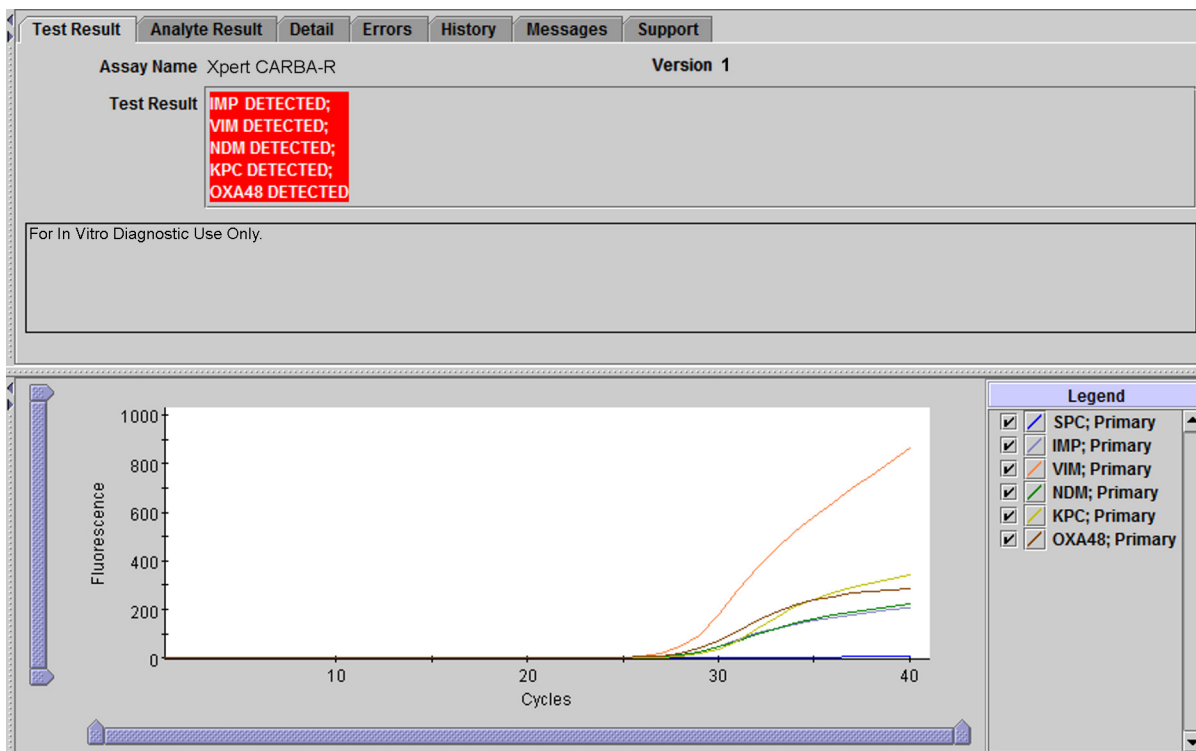
Ilustracja 8. Test Carba-R — wykryto IMP i NDM



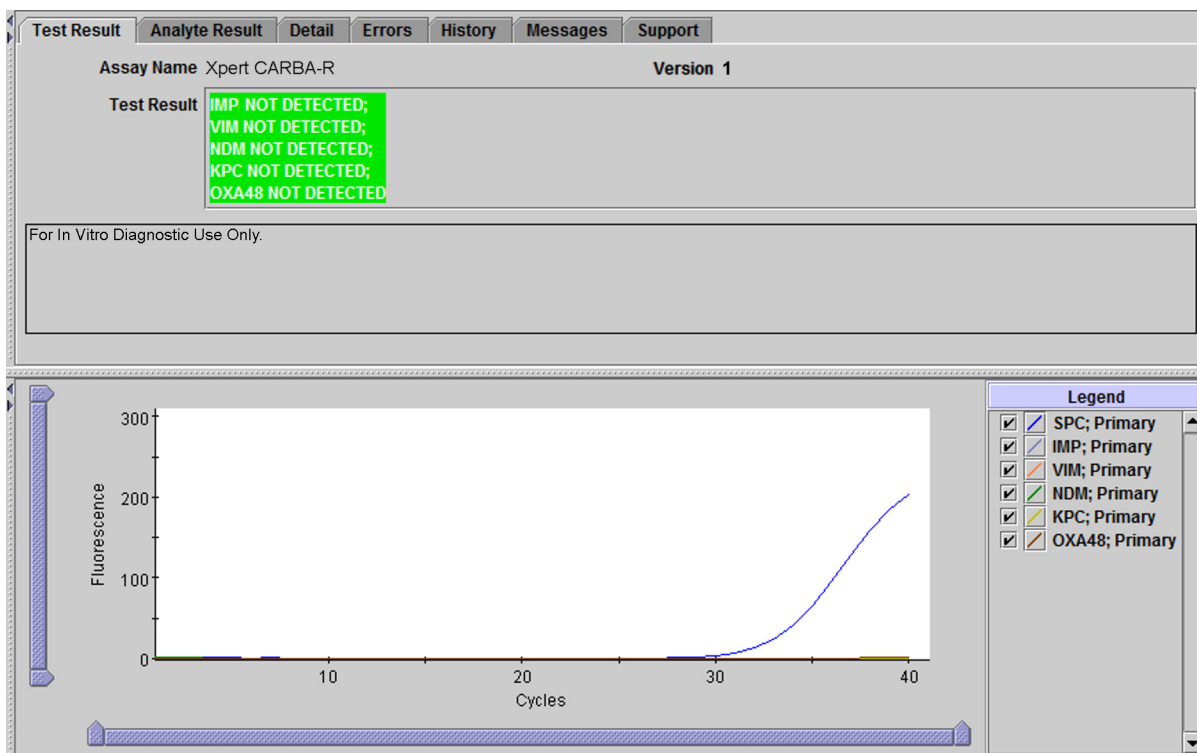
Ilustracja 9. Test Carba-R — wykryto IMP, VIM i OXA-48



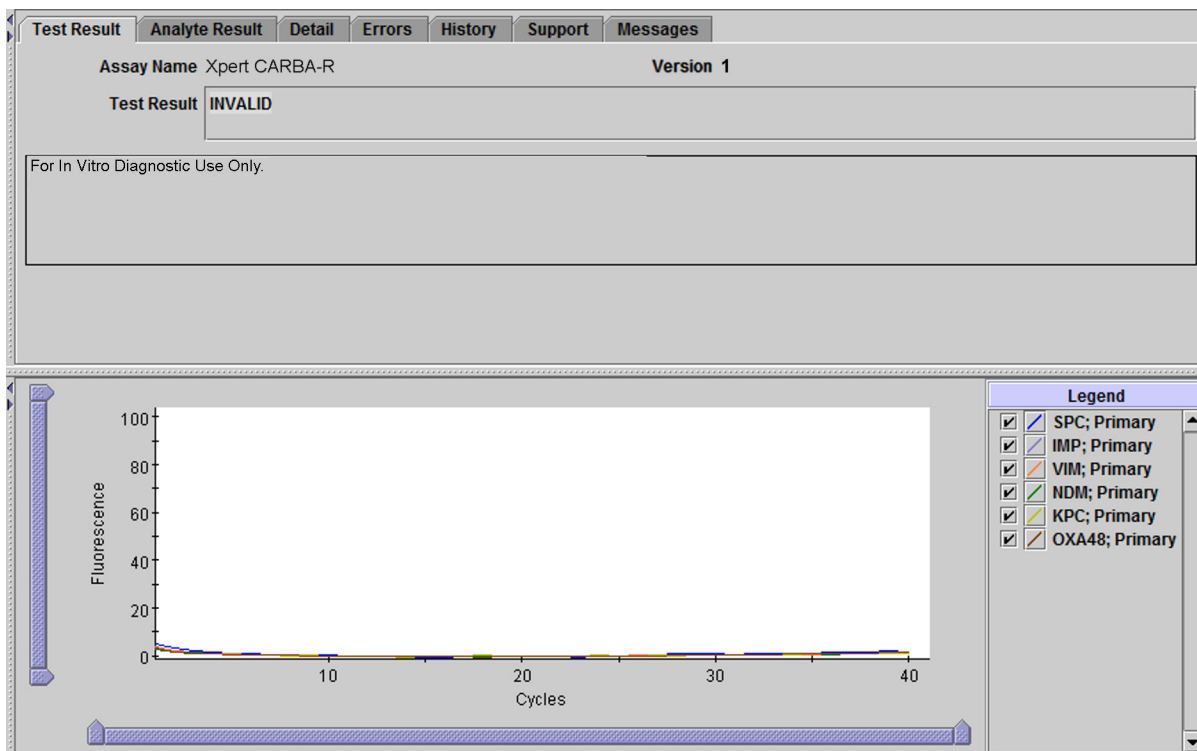
Ilustracja 10. Test Carba-R — wykryto IMP, VIM, NDM i OXA-48



Ilustracja 11. Test Carba-R — wykryto IMP, VIM, NDM, KPC i OXA-48



Ilustracja 12. Test Carba-R — nie wykryto IMP, VIM, NDM, KPC ani OXA-48



Ilustracja 13. Test Carba-R — nieważny

13 Sytuacje, w których należy powtórzyć badanie

Badanie należy powtórzyć z użyciem nowego kartridża (nie należy ponownie używać kartridża) i nowej fiolki z odczynnikiem do próbek. Informacje dotyczące procedury powtórzenia badania zawiera Punkt 14, Procedura powtórzenia badania.

- Wynik **NIEWAŻNY (INVALID)** oznacza, że kontrola SPC się nie powiodła. Próbka nie została poprawnie przetworzona, nastąpiło zahamowanie reakcji PCR lub objętość dodanej próbki była nieodpowiednia.
- Wynik **BŁĄD (ERROR)** oznacza niepowodzenie kontroli sondy i przerwanie badania prawdopodobnie spowodowane niewłaściwym napełnieniem komory reakcyjnej, wykryciem błędu dotyczącego integralności sondy odczynnika, przekroczeniem wartości granicznej ciśnienia maksymalnego lub wykryciem błędu pozycjonowania zaworu.
- **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku lub gdy nastąpiła awaria zasilania.
- Jeśli wynik kontroli zewnętrznej będzie inny niż oczekiwany, wówczas należy powtórzyć badanie kontroli zewnętrznej i/lub skontaktować się z firmą Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid w celu uzyskania pomocy.

14 Procedura powtórzenia badania

14.1 Procedura powtórzenia badania dotycząca próbek wymazów z odbytnicy lub wymazów okołoodbytnicznych

1. Wyjąć nowy kartridż, nową fiolkę z odczynnikiem do próbek i nową pipetę transferową z zestawu.
2. Wyjąć pozostałą wymazówkę z pojemnika transportowego.
3. Włożyć wymazówkę do nowej fiolki z odczynnikiem do próbek. Trzymając wymazówkę za trzon blisko krawędzi fiolki, unieść wymazówkę na wysokość kilku milimetrów od dna fiolki i zagiąć trzon na krawędzi fiolki w celu jego złamania w oznaczonym miejscu; pozostała część wymazówki powinna być wystarczająco krótka, aby się zmieścić w fiolce i umożliwić szczelne zamknięcie zatyczki.
4. Szczelnie zamknąć zatyczkę nowej fiolki z odczynnikiem do próbek i mieszać na wytrząsarce typu vortex przy wysokiej prędkości przez 10 sekund.
5. Otworzyć wieczko kartridża. Przy pomocy dostarczonej pipety transferowej zaaspirować odczynnik do próbek do linii na pipecie, a następnie przenieść materiał do komory na próbkę kartridża testu Xpert Carba-R.
6. Zamknąć wieczko kartridża i umieścić kartridż w aparacie GeneXpert w ciągu 30 minut. Postępować zgodnie z instrukcjami, które zawiera Punkt 10.2, Rozpoczynanie badania.

14.2 Procedura powtórzenia badania dotycząca próbek izolatów bakterii

1. Wyjąć nowy kartridż, nową fiolkę z odczynnikiem do próbek i nową pipetę transferową z zestawu.
2. Przenieść całą zawartość pozostałości próbki w fiolce z odczynnikiem do próbek do nowej fiolki z odczynnikiem do próbek.
3. Szczelnie zamknąć zatyczkę nowej fiolki z odczynnikiem do próbek i mieszać na wytrząsarce typu vortex przy wysokiej prędkości przez 10 sekund.
4. Otworzyć wieczko kartridża. Przy pomocy dostarczonej pipety transferowej zaaspirować odczynnik do próbek do linii na pipecie, a następnie przenieść materiał do komory na próbkę kartridża testu Xpert Carba-R.
5. Zamknąć wieczko kartridża i umieścić kartridż w aparacie GeneXpert w ciągu 30 minut. Postępować zgodnie z instrukcjami, które zawiera Punkt 10.2, Rozpoczynanie badania.

Uwaga

W przypadku izolatów bakterii nie wykonywać procedury powtórzenia badania więcej niż jeden raz, ponieważ kolejne rozcieńczenia mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych.

15 Ograniczenia

15.1 Ograniczenia ogólne

- Test Xpert Carba-R wykrywa sekwencje genów *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* i *bla_{IMP}* w próbkach wymazów z odbytnicy lub wymazów okołoodbytnicznych oraz w czystych koloniach i nie jest przeznaczony do identyfikowania bakterii. Wykrycie tych sekwencji genów nie oznacza obecności żywych drobnoustrojów.
- Test Xpert Carba-R nie jest narzędziem do podtypowania i nie zgłasza wariantów genów *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}* ani *bla_{OXA-48}*.
- Niektóre gatunki bakterii, takie jak *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*, wykazują oporność na karbapenemy spowodowaną przez wewnętrzne mechanizmy oporności.
- W badaniu nie oceniono wykrywania genów OXA karbapenemaz innych niż *bla_{OXA-48}* i *bla_{OXA-181}*.

- Analizy *in silico* umożliwiające przewidywanie wariantów wykrywanych przez test były oparte na porównaniu sekwencji docelowych genów dostępnych w bazie danych GenBank z oligonukleotydami starterów/sond i sekwencjami amplikonów dla każdej sekwencji docelowej testu Xpert Carba-R. Wyszukiwania BLAST w ramach analizy *in silico* wykonywano w latach 2014–2015. Nie wykonano analizy *in silico* nowych wariantów sekwencji genów dodanych do bazy danych po roku 2015 pod kątem pięciu sekwencji docelowych genów.
- Mutacje lub polimorfizmy w regionach wiązania starterów lub sond mogą wpływać na wykrywanie obecnych, nowych lub nieznanych wariantów genów *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP}, co może prowadzić do uzyskania wyniku fałszywie ujemnego.
- Test Xpert Carba-R wygeneruje wynik ujemny pod kątem sekwencji genu IMP w przypadku badania próbek zawierających sekwencje genów IMP-7, IMP-13 lub IMP-14.
- Skuteczność testu Xpert Carba-R w przypadku genów karbapenemaz innych niż docelowe, innych niż *bla*_{SPM}, *bla*_{SME} i *bla*_{IMI}, jest nieznaną.
- Ponieważ wykrycie sekwencji genów *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP} zależy od liczby drobnoustrojów w próbce, wiarygodne wyniki zależą od odpowiedniego postępowania z próbkami i ich przechowywania.
- Testy Xpert Carba-R należy wykonywać dodatkowo do innych dostępnych metod.
- Wyniki testu Xpert Carba-R mogą czasami mieć wartość **NIEWAŻNY (INVALID)** z powodu niepowodzenia kontroli SPC, bądź wartość **BŁĄD (ERROR)** lub **BRAK WYNIKU (NO RESULT)**, co wiąże się z koniecznością powtórzenia badania mogącego opóźnić uzyskanie końcowych wyników.

15.2 Ograniczenia dotyczące próbek z odbyticy i okołodbytnicznych

- Skuteczność testu Xpert Carba-R nie została oceniona pod kątem próbek wymazów z odbyticy lub wymazów okołodbytnicznych pobranych od pacjentów pediatrycznych.
- Badania analityczne z użyciem kombinacji dwóch populacji bakterii na stworzonych na potrzeby testu próbkach wymazów wskazują, że w sytuacji, gdy pierwszy gatunek bakterii wytwarzającej karbapenemazy zostanie posiany w stężeniu zbliżonym do granicy wykrywalności, a drugi gatunek bakterii wytwarzającej karbapenemazy będzie obecny w stężeniu wynoszącym co najmniej 5×10^6 CFU/wymaz, sekwencja docelowa o niskim stężeniu może nie zostać wykryta. Równoczesna kolonizacja przez co najmniej dwa drobnoustroje wytwarzające karbapenemazy była zgłaszana przez test Xpert Carba-R, jednak jest to rzadka sytuacja. Brak wykrycia drugiej sekwencji docelowej powinien mieć minimalny wpływ na opiekę nad pacjentem, ponieważ procedury izolacji powinny zostać wdrożone w przypadku pacjentów z jakimikolwiek wynikami dodatnimi pod kątem drobnoustroju wytwarzającego karbapenemazy.
- Interferencja testu Xpert Carba-R może zostać zaobserwowana w przypadku siarczanu baru w stężeniu $> 0,1\%$ wag./obj. i substancji Pepto-Bismol w stężeniu $> 0,01\%$ wag./obj. w badaniach z użyciem próbek matrycy wymazów z odbyticy.
- Interferencja testu Xpert Carba-R może zostać zaobserwowana w przypadku siarczanu baru w stężeniu $> 0,1\%$ wag./obj. i substancji Pepto-Bismol w stężeniu $> 0,025\%$ wag./obj. w badaniach z użyciem próbek matrycy wymazów okołodbytnicznych.
- W przypadku próbek wymazów z odbyticy zawierających sekwencję docelową VIM interferencje mogą wystąpić, jeśli tłuszcz w kale jest obecny w stężeniu $0,25\%$ wag./obj. powodującym opóźnienie wartości cyklu progowego.
- Oprócz grup *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* w badaniu oceniono również inne bakterie spoza rodziny *Enterobacteriaceae*: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzihabitans* (1), *Pseudomonas putida* (2) i *Empedobacter brevis* (1). Skuteczność testu Xpert Carba-R w przypadku innych bakterii spoza rodziny *Enterobacteriaceae*, oprócz tych sześciu gatunków, nie została oceniona i dlatego jest nieznaną.
- W przypadku próbek wymazów z odbyticy test Xpert Carba-R wykazał zmniejszoną zgodność procentową wyników dodatnich (PPA wynoszącą 55,6%) pod kątem wykrywania sekwencji genu *bla*_{VIM} w bakterii *Pseudomonas aeruginosa*. Cztery (4) wyniki fałszywie ujemne uzyskano przy pomocy testu w przypadku próbek, w których wzrost bakterii *Pseudomonas aeruginosa* zawierającej sekwencję genu *bla*_{VIM} uzyskano przy pomocy metody referencyjnej.
- W przypadku próbek wymazów z odbyticy test Xpert Carba-R wykazał zmniejszoną zgodność procentową wyników dodatnich (PPA wynoszącą 85,7%) pod kątem wykrywania sekwencji genu *bla*_{IMP} w bakterii *Acinetobacter baumannii* w ramach badania. Ponadto niską % łączną zgodność (86,1%) między ośrodkami w badaniu odtwarzalności zaobserwowano w przypadku próbek zawierających niskie stężenia drobnoustrojów zawierających sekwencję genu *bla*_{IMP}.
- Beztlenowce odporne na karbapenemy potencjalnie obecne w próbkach kału nie były oceniane przy pomocy testu Xpert Carba-R.

- Wykrycie sekwencji genów *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i/lub *bla*_{IMP} w próbkach wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych może być spowodowane przez drobnoustroje inne niż *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*.
- Skuteczność testu Xpert Carba-R w przypadku izolatów wrażliwych zawierających sekwencje genów *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i/lub *bla*_{IMP} nie została w pełni oceniona.

15.3 Ograniczenia dotyczące czystych kolonii bakteryjnych

- W przypadku czystych kolonii skuteczność testu Xpert Carba-R pod kątem bakterii innych niż *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* lub *Acinetobacter baumannii* nie została oceniona. Przed rozpoczęciem testu Xpert Carba-R należy zidentyfikować drobnoustroje i określić stan niewrażliwości na karbapenemy.
- Błędne wyniki badania mogą być spowodowane niewłaściwymi technikami hodowli, nieprzestrzeganiem zalecanych procedur przygotowania zawiesiny 0,5 jednostki w skali McFarlanda, procedurami obsługi i przechowywania próbki, błędem technicznym, pomieszaniem próbek bądź zbyt małą liczbą drobnoustrojów w próbce uniemożliwiającej ich wykrycie przez test. Uważne przestrzeganie instrukcji zawartych w niniejszej ulotce informacyjnej pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.

16 Wartości oczekiwane

W badaniu klinicznym testu Xpert Carba-R łącznie 2543 próbki, obejmujące próbki wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych oraz próbki stworzone na potrzeby testu, oceniono w 8 ośrodkach badania w Stanach Zjednoczonych i poza Stanami Zjednoczonymi. Wyniki testu Xpert Carba-R w porównaniu z wynikami hodowli i analizy sekwencjonowania dwukierunkowego DNA według sekwencji docelowej genu dla każdej z próbek prospektywnych połączonych i stworzonych na potrzeby testu przedstawia Tabela 2.

W osobnym badaniu klinicznym testu Xpert Carba-R łącznie 467 izolatów bakterii oceniono w 4 ośrodkach badania w Stanach Zjednoczonych i poza Stanami Zjednoczonymi. Wyniki testu Xpert Carba-R w porównaniu z wynikami analizy sekwencjonowania dwukierunkowego DNA według sekwencji docelowej genu dla każdego z dwóch rodzajów agarów przedstawia Tabela 8, Tabela 9, Tabela 10, Tabela 11 i Tabela 12.

17 Charakterystyka testu

17.1 Skuteczność kliniczna — próbki wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych

Charakterystykę testu Xpert Carba-R pod kątem próbek wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych określono w wieloośrodkowym badaniu klinicznym. Zgodność procentową wyników dodatnich (PPA) i zgodność procentową wyników ujemnych (NPA) testu Xpert Carba-R oceniono w odniesieniu do hodowli metodą referencyjną (wzbogacony bulion MacConkey'a) i reakcji PCR / analizy sekwencjonowania dwukierunkowego DNA.

W ośmiu geograficznie zróżnicowanych ośrodkach (sześciu w Stanach Zjednoczonych i dwóch w Europie) pary próbek wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych prospektywnie pobrano od uczestników, którzy byli hospitalizowani lub przebywali w placówce opieki długoterminowej. Bardzo zanieczyszczone próbki wymazów z odbytnicy lub wymazów okołodbytnicznych wykluczono z badania zgodnie ze wskazówkami w Punkcie 9 (Przygotowanie i przechowywanie próbek). W badaniu uwzględniono również próbki stworzone na potrzeby testu z powodu niskiej prevalencji każdej z sekwencji docelowych genów testu Xpert Carba-R w przypadku braku epidemii.

Pierwszy wymaz z pary służył do wykonania testu Xpert Carba-R. Drugi wymaz posiano we wzbogaconym bulionie MacConkey'a i używano do badań z zastosowaniem metody referencyjnej. Laboratorium wykonujące hodowlę referencyjną określiło obecność drobnoustrojów niewrażliwych na karbapenemy poprzez wykonanie hodowli każdego z gatunków we wzbogaconym bulionie MacConkey'a. Wykonano badania przesiewowe wzbogaconego bulionu MacConkey'a pod kątem obecności drobnoustrojów niewrażliwych na karbapenemy wstępnie poprzez naniesienie bulionu na płytki z agarem MacConkey'a z krążkiem z meropenemem.

W przypadku próbek wykazujących wzrost bakterii Gram-ujemnych wokół krążka z meropenemem potwierdzenie niewrażliwości na karbapenemy uzyskano dla wyizolowanych kolonii z zastosowaniem metody dyfuzji krążkowej (zgodnie z dokumentem M02 organizacji CLSI), a także zgodnie z dokumentem M100²⁰ organizacji CLSI. DNA wyekstrahowane z izolatów niewrażliwych na karbapenemy oczyszczono, zliczono i zamplifikowano z użyciem starterów swoistych dla wszystkich pięciu sekwencji docelowych genów; zamplifikowane regiony obejmowały więcej regionów bazowych niż regiony zamplifikowane przy pomocy testu Xpert Carba-R. Wytworzenie odpowiedniej wielkości produktu amplifikacji potwierdzono przy pomocy bioanalizatora Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, Kalifornia).

Jeśli prążki przedstawione w bioanalyzerze odpowiadały oczekiwanej wielkości ampliconu dowolnej z pięciu sekwencji docelowych genów wykrywanych przez test Xpert Carba-R, wówczas amplicon izolatu przesyłano do niezależnego laboratorium w celu wykonania analizy referencyjnego sekwencjonowania dwukierunkowego, która została zatwierdzona pod kątem wykrywania pięciu sekwencji docelowych przez test Xpert Carba-R. Jeśli żadne prążki nie zostały przedstawione w bioanalyzerze dla żadnej z pięciu sekwencji docelowych genów, wówczas izolatu nie przesyłano w celu wykonania analizy sekwencji, a wynik metody referencyjnej uznawano za ujemny pod kątem pięciu sekwencji docelowych genów.

Wyniki próbek prospektywnych uzyskane przy pomocy testu Xpert Carba-R w porównaniu z wynikami metody referencyjnej

Łącznie 802 prospektywne próbki wymazów z odbytnicy początkowo zarejestrowano w tym badaniu klinicznym, spośród których 785 zostało zakwalifikowanych do włączenia. Spośród 785 zakwalifikowanych próbek 755 próbek zostało włączonych do ostatecznego zestawu po wykluczeniu próbek na podstawie odchyień od protokołu (w tym 16 drobnoustrojów *Stenotrophomonas maltophilia*, które zostały wykluczone z powodu ich wewnętrznych mechanizmów oporności na badane karbapenemy).

Łącznie 963 prospektywne próbki wymazów okołodbytnicznych początkowo zarejestrowano w tym badaniu klinicznym, spośród których 947 zostało zakwalifikowanych do włączenia. Spośród 947 zakwalifikowanych próbek 924 próbki zostały włączone do ostatecznego zestawu po wykluczeniu próbek na podstawie odchyień od protokołu (w tym 10 drobnoustrojów *Stenotrophomonas maltophilia*, jednego drobnoustroju *Pseudomonas putida* i jednego drobnoustroju *Pseudomonas stutzeri*, które zostały wykluczone z powodu kryteriów projektu badania).

W przypadku prospektywnych próbek wymazów z odbytnicy test Xpert Carba-R wykazał zgodność PPA wynoszącą od 60,0% do 100% dla czterech sekwencji docelowych testu (*bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM} i *bla*_{OXA-48}) w odniesieniu do metody referencyjnej (Tabela 2). Zgodność NPA dla sekwencji genów *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP} wyniosła od 98,6% do 99,9% w odniesieniu do metody referencyjnej (Tabela 2).

W przypadku prospektywnych próbek wymazów okołodbytnicznych test Xpert Carba-R wykazał zgodność PPA wynoszącą 100% dla trzech sekwencji docelowych testu (*bla*_{NDM}, *bla*_{KPC} and *bla*_{OXA-48}) w odniesieniu do metody referencyjnej. Zgodność NPA dla sekwencji genów *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP} wyniosła od 99,6% do 100% w odniesieniu do metody referencyjnej (Tabela 2).

Łącznie w przypadku prospektywnych próbek wymazów z odbytnicy i wymazów okołodbytnicznych test Xpert Carba-R wykazał zgodność PPA wynoszącą od 60,0% do 100% dla czterech sekwencji docelowych testu (*bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM} i *bla*_{OXA-48}) w odniesieniu do metody referencyjnej (Tabela 2). Zgodność NPA dla sekwencji genów *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP} wyniosła od 99,3% do 99,9% w odniesieniu do metody referencyjnej (Tabela 2).

W przypadku próbek z wynikami rozbieżnymi (test Xpert Carba-R miał wynik dodatni pod kątem sekwencji docelowej genu, ale drobnoustroj niewrażliwy na karbapenemy nie został wyizolowany w hodowli referencyjnej), analizę wyników rozbieżnych wykonano przy pomocy sekwencjonowania dwukierunkowego DNA wyekstrahowanego bezpośrednio ze wzbogaconego bulionu MacConkey'a. Wyniki badania rozbieżności omówiono w przypisach, które zawiera Tabela 2.

Tabela 2. Skuteczność testu Xpert Carba-R w porównaniu z hodowlą referencyjną i sekwencjonowaniem — próbki prospektywne

Rodzaj próbki	Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	PPA (95% CI)	NPA (95% CI)
Z odbytnicy ^a	IMP	755	0	1 ^b	754	0	Nd.	99,9% (99,3-100)
	VIM	755	6	8 ^c	737	4	60,0% (31,3-83,2)	98,9% (97,9-99,5)
	NDM	755	7	3 ^d	745	0	100% (64,6-100)	99,6% (98,8-99,9)
	KPC	755	29	6 ^{e,f}	720	0	100% (88,3-100)	99,2% (98,2-99,6)
	OXA-48	755	29	10 ^g	715	1	96,7% (83,3-99,4)	98,6% (97,5-99,2)

Tabela 2. Skuteczność testu Xpert Carba-R w porównaniu z hodowlą referencyjną i sekwencjonowaniem — próbki prospektywne (ciąg dalszy)

Rodzaj próbki	Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	PPA (95% CI)	NPA (95% CI)
Okoloodybytnicze ^h	IMP	924	0	0	924	0	Nd.	100% (99,6-100)
	VIM	924	0	0	924	0	Nd.	100% (99,6-100)
	NDM	924	1	0	923	0	100% (20,7-100)	100% (99,6-100)
	KPC	924	2	4 ⁱ	918	0	100% (34,2-100)	99,6% (98,9-99,8)
	OXA-48	924	1	1 ^j	922	0	100% (20,7-100)	99,9% (99,4-100)
Łączone ^{a,h}	IMP	1679	0	1 ^b	1678	0	Nd.	99,9% (99,7-100)
	VIM	1679	6	8 ^c	1661	4	60,0% (31,3-83,2)	99,5% (99,1-99,8)
	NDM	1679	8	3 ^d	1668	0	100% (67,6-100)	99,8% (99,5-99,9)
	KPC	1679	31	10 ^k	1638	0	100% (89,0-100)	99,4% (98,9-99,7)
	OXA-48	1679	30	11 ^l	1637	1	96,8% (83,8-99,4)	99,3% (98,8-99,6)

N = liczba, TP = wynik prawdziwie dodatni, FP = wynik fałszywie dodatni, TN = wynik prawdziwie ujemny, FN = wynik fałszywie ujemny

- Spośród 755 prospektywnych próbek wymazów z odbytnicy ocenionych w badaniu dla 636 próbek nie uzyskano izolatu hodowli. Spośród pozostałych 119 próbek w hodowli referencyjnej uzyskano wzrost 112 drobnoustrojów niewrażliwych na karbapenemy, a także 7 drobnoustrojów wrażliwych na karbapenemy [*Pseudomonas aeruginosa* (5), *Escherichia coli* (1) i *Enterobacter cloacae* (1)].
- Wyniki badań po sekwencjonowaniu: 1 z 1 miała wynik ujemny pod kątem IMP.
- Wyniki badań po sekwencjonowaniu: 2 z 8 miały wynik dodatni pod kątem VIM; 6 z 8 miało wynik ujemny pod kątem VIM.
- Wyniki badań po sekwencjonowaniu: 1 z 3 miała wynik dodatni pod kątem NDM; 2 z 3 miały wynik ujemny pod kątem NDM.
- Wyniki badań po sekwencjonowaniu: 1 z 6 miała wynik dodatni pod kątem KPC; 5 z 6 miało wynik ujemny pod kątem KPC.
- Ośrodek zgłosił, że uczestnik był leczony ertapenemem w czasie pobierania próbek.
- Wyniki badań po sekwencjonowaniu: 3 z 10 miały wynik dodatni pod kątem OXA-48; 7 z 10 miało wynik ujemny pod kątem OXA-48.
- Spośród 924 prospektywnych próbek wymazów okoloodybytnicznych ocenionych w badaniu dla 891 próbek nie uzyskano izolatu hodowli. Spośród pozostałych 33 próbek w hodowli referencyjnej uzyskano wzrost 31 drobnoustrojów niewrażliwych na karbapenemy, a także dwóch drobnoustrojów wrażliwych na karbapenemy (*Pseudomonas aeruginosa*).
- Wyniki badań po sekwencjonowaniu: 4 z 4 miały wynik ujemny pod kątem KPC.
- Wyniki badań po sekwencjonowaniu: 1 z 1 miała wynik ujemny pod kątem OXA-48.
- Wyniki badań po sekwencjonowaniu: 1 z 10 miała wynik dodatni pod kątem KPC; 9 z 10 miało wynik ujemny pod kątem KPC.
- Wyniki badań po sekwencjonowaniu: 3 z 11 miały wynik dodatni pod kątem OXA-48; 8 z 11 miało wynik ujemny pod kątem OXA-48.

Skuteczność testu Xpert Carba-R w przypadku łącznych prospektywnych próbek z odbytnicy i okołodbytnicznych według gatunku przedstawia Tabela 3. Tabela 3 przedstawia tylko te drobnoustroje, dla których pobrano co najmniej jedną próbkę dodatnią.

Tabela 3. Skuteczność testu Xpert Carba-R w porównaniu z hodowlą referencyjną i sekwencjonowaniem według rodzaju drobnoustroju — prospektywne próbki z odbytnicy i okołodbytnicze

Gatunek ^a	Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	PPA (95% CI)	NPA (95% CI)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	IMP	1	0	0	1	0	Nd.	100% (20,7-100)
	VIM	1	0	0	1	0	Nd.	100% (20,7-100)
	NDM	1	0	0	1	0	Nd.	100% (20,7-100)
	KPC	1	1	0	0	0	100% (20,7-100)	Nd.
	OXA-48	1	0	0	1	0	Nd.	100% (20,7-100)
<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP	4	0	0	4	0	Nd.	100% (51,0-100)
	VIM	4	1	0	3	0	100% (20,7-100)	100% (43,9-100)
	NDM	4	0	0	4	0	Nd.	100% (51,0-100)
	KPC	4	0	0	4	0	Nd.	100% (51,0-100)
	OXA-48	4	1	0	3	0	100% (20,7-100)	100% (43,9-100)
<i>E. coli</i>	IMP	10	0	0	10	0	Nd.	100% (72,3-100)
	VIM	10	0	0	10	0	Nd.	100% (72,3-100)
	NDM	10	3	0	7	0	100% (43,9-100)	100% (67,6-100)
	KPC	10	2	0	8	0	100% (34,2-100)	100% (64,6-100)
	OXA-48	10	3	0	7	0	100% (43,9-100)	100% (64,6-100)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP	1	0	0	1	0	Nd.	100% (20,7-100)
	VIM	1	0	0	1	0	Nd.	100% (20,7-100)
	NDM	1	0	0	1	0	Nd.	100% (20,7-100)
	KPC	1	0	0	1	0	Nd.	100% (20,7-100)
	OXA-48	1	1	0	0	0	100% (20,7-100)	Nd.

Tabela 3. Skuteczność testu Xpert Carba-R w porównaniu z hodowlą referencyjną i sekwencjonowaniem według rodzaju drobnoustroju — prospektywne próbki z odbytnicy i okołodbytnicze (ciąg dalszy)

Gatunek ^a	Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	PPA (95% CI)	NPA (95% CI)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP	63	0	1	62	0	Nd.	98,4% (91,5-99,7)
	VIM	63	0	1	62	0	Nd.	98,4% (91,5-99,7)
	NDM	63	5	1	57	0	100% (56,6-100)	98,3% (90,9-99,7)
	KPC	63	28	1	34	0	100% (87,9-100)	97,1% (85,5-99,5)
	OXA-48	63	25	3	34	1	96,2% (81,1-99,3)	91,9% (78,7-97,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	58	0	0	58	0	Nd.	100% (93,8-100)
	VIM	58	5	0	49	4	55,6% (26,7-81,1)	100% (92,7-100)
	NDM	58	0	1	57	0	Nd.	98,3% (90,9-99,7)
	KPC	58	0	2	56	0	Nd.	96,6% (88,3-99,1)
	OXA-48	58	0	0	58	0	Nd.	100% (93,8-100)

a. Uzyskano wzrost drobnoustrojów *Acinetobacter baumannii* (14) i *Enterobacter amnigenus* (1), ale nie zawierały one sekwencji docelowych w przypadku metody referencyjnej ani testów Xpert Carba-R.

W dziewięciu próbkach prospektywnych wykryto przy pomocy testu Xpert Carba-R wiele sekwencji docelowych. Tabela 4 zawiera szczegółowe informacje, a także wyniki sekwencjonowania rozbieżności.

Tabela 4. Prospektywne próbki z odbytnicy i okołodbytnicze z wykrytymi wieloma sekwencjami docelowymi

Próbka	Sekwencje docelowe wykryte przez test Xpert Carba-R	Sekwencje docelowe wykryte w sekwencjonowaniu referencyjnym	Wyniki badania rozbieżności — sekwencje docelowe wykryte w sekwencjonowaniu referencyjnym
1	KPC, OXA-48	Ujemny	Ujemny
2	VIM, KPC	Ujemny ^a	Ujemny ^a
3	VIM, OXA-48	OXA-48	OXA-48
4	KPC, OXA-48	KPC	KPC, OXA-48
5	NDM, OXA-48	NDM	NDM, OXA-48
6	VIM, NDM	Ujemny ^a	Ujemny
7	NDM, KPC	KPC	NDM, KPC
8	VIM, KPC	VIM	VIM, KPC
9	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48	Nd.

a. Drobnoustrój nie został wyizolowany w hodowli referencyjnej, dlatego nie wykonano sekwencjonowania referencyjnego.

Wyniki próbek stworzonych na potrzeby testu uzyskane przy pomocy testu Xpert Carba-R w porównaniu z wynikami metody referencyjnej

W ramach badania klinicznego badano również łącznie 864 próbki stworzone na potrzeby testu (432 przygotowane w matrycy wymazów z odbytnicy i 432 przygotowane w matrycy wymazów okołodbytnicznych).

Oprócz grup *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* w badaniu oceniono również 5 innych szczepów bakterii spoza rodziny *Enterobacteriaceae*: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzihabitans* (1), *Pseudomonas putida* (2) i *Empedobacter brevis* (1).

W przypadku próbek stworzonych na potrzeby testu test Xpert Carba-R wykazał zgodność PPA wynoszącą od 95% do 100% dla wszystkich sekwencji docelowych testu (*bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP}). Zgodność NPA dla sekwencji genów *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} i *bla*_{IMP} wyniosła 100% w odniesieniu do metody referencyjnej (Tabela 5).

Tabela 5. Skuteczność testu Xpert Carba-R w porównaniu z metodą referencyjną — próbki stworzone na potrzeby testu

Matryca	Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	PPA (95% CI)	NPA (95% CI)
Z odbytnicy	IMP	432	76	0	352	4	95,0% (87,8-98,0)	100% (98,9-100)
	VIM	432	81	0	350	1	98,8% (93,4-99,8)	100% (98,9-100)
	NDM	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	KPC	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	OXA-48	432	79	0	352	1	98,8% (93,3-99,8)	100% (98,9-100)
Okoloodytniczne	IMP	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	VIM	432	82	0	350	0	100% (95,5-100)	100% (98,9-100)
	NDM	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	KPC	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
	OXA-48	432	80	0	352	0	100% (95,4-100)	100% (98,9-100)
Łącznie	IMP	864	156	0	704	4	97,5% (93,7-99,0)	100% (99,5-100)
	VIM	864	163	0	700	1	99,4% (96,6-99,9)	100% (99,5-100)
	NDM	864	160	0	704	0	100% (97,7-100)	100% (99,5-100)
	KPC	864	160	0	704	0	100% (97,7-100)	100% (99,5-100)
	OXA-48	864	159	0	704	1	99,4% (96,5-99,9)	100% (99,5-100)

Badanie równoważności próbek wymazów okołodbytniczych i próbek wymazów z odbytnicy

Aby wykazać równoważność próbek wymazów okołodbytniczych i próbek wymazów z odbytnicy, przeprowadzono badanie w jednym ośrodku uwzględniające świeże próbki wymazów z odbytnicy i wymazów okołodbytniczych prospektywnie pobrane od uczestników, którzy wyrazili świadomą zgodę i którzy byli hospitalizowanymi pacjentami.

Do pobrania próbek od każdego pacjenta użyto zestawów pary wymazówek dostarczonych z systemem do pobierania próbek firmy Cepheid. Pierwszy zestaw pary wymazówek służył do pobierania próbek wymazów okołodbytniczych, a drugi zestaw pary wymazówek — do pobierania próbek wymazów z odbytnicy. Od jednego pacjenta najpierw pobierano próbki wymazów okołodbytniczych, a następnie próbki wymazów z odbytnicy. Pierwszy wymaz z każdego zestawu pary wymazówek służył do wykonania testu Xpert Carba-R. Drugi wymaz z każdego zestawu pary wymazówek służył do hodowli i badania wrażliwości, jeśli jedna lub obie próbki wymazów okołodbytniczych lub wymazów z odbytnicy miały wynik dodatni pod kątem co najmniej jednej sekwencji docelowej w teście Xpert Carba-R. Hodowla nie była wykonywana, jeśli obie próbki wymazów okołodbytniczych i wymazów z odbytnicy miały wynik ujemny w teście Xpert.

Sekwencjonowanie dwukierunkowe DNA wykonano z użyciem DNA wyekstrahowanego z wyizolowanych kolonii, które wykazywały niewrażliwość na karbapenemy z zastosowaniem metody dyfuzji krążkowej zgodnie z wytycznymi organizacji CLSI, lub z bulionu MacConkey'a z krążkiem z meropenemem, jeśli wynik hodowli był ujemny, a wynik testu Xpert Carba-R był dodatni. Wyniki metody referencyjnej nie posłużyły do zmiany danych skuteczności w badaniu równoważności próbek wymazów.

Łącznie 207 próbek początkowo zarejestrowano w tym badaniu klinicznym, spośród których wszystkie zostały zakwalifikowane do włączenia. Spośród 207 zakwalifikowanych próbek 201 próbek zostało włączonych do ostatecznego zestawu służącego do analizy. Sześć próbek wymazów (4 próbki wymazów okołodbytniczych i 2 próbki wymazów z odbytnicy) wykluczono z powodu nieokreślonych wyników w teście Xpert Carba-R.

Spośród 201 próbek uwzględnionych w analizie danych 92 (45,8%) pobrano od kobiet uczestniczących w badaniu, a 109 (54,2%) — od mężczyzn uczestniczących w badaniu. Ogólnie 45,8% (92/201) próbek pobrano od uczestników w wieku od 21 do 65 lat, a 54,2% (109/201) — od uczestników w wieku > 65 lat.

Skuteczność (zgodność PPA i NPA) testu Xpert Carba-R z użyciem próbek wymazów okołodbytniczych określono w odniesieniu do wyników testu Xpert Carba-R z użyciem próbek wymazów z odbytnicy pobranych od tego samego uczestnika. Szacunkowe wartości zgodności PPA i NPA przedstawia Tabela 6. W odniesieniu do wyników testu Xpert Carba-R z użyciem próbek wymazów z odbytnicy próbki wymazów okołodbytniczych wykazały ogólną zgodność PPA i NPA wynoszącą odpowiednio 94,7% (95% CI: 75,4–99,1) i 97,8% (95% CI: 94,5–99,1).

Tabela 6. Test Xpert Carba-R — próbki wymazów okołodbytniczych w porównaniu z próbkami wymazów z odbytnicy

Test Xpert Carba-R — próbki wymazów z odbytnicy				
Test Xpert Carba-R — próbki wymazów okołodbytniczych		Dodatnie	Ujemne	Łącznie
	Dodatnie	18 ^a	4 ^b	22
	Ujemne	1 ^c	178	179
	Łącznie	19	182	201
PPA			94,7% (95% CI: 75,4-99,1)	
NPA			97,8% (95% CI: 94,5-99,1)	

- W przypadku jednej próbki test Xpert z użyciem wymazu z odbytnicy miał wynik dodatni pod kątem KPC i OXA-48, a z użyciem wymazu okołodbytnicznego — wynik dodatni pod kątem tylko OXA-48. Próbka miała wynik ujemny w hodowli dla zarówno wymazu z odbytnicy, jak i wymazu okołodbytnicznego. Wyniki sekwencji z użyciem bulionów MacConkey'a były ujemne dla wymazu okołodbytnicznego oraz dodatnie pod kątem OXA-48 dla wymazu z odbytnicy.
- 2 z 4 miały wynik dodatni w hodowli dla zarówno wymazu z odbytnicy, jak i wymazu okołodbytnicznego; oba wyniki sekwencji z użyciem izolatów były dodatnie pod kątem OXA-48. 1 z 4 miała wynik ujemny w hodowli dla zarówno wymazu z odbytnicy, jak i wymazu okołodbytnicznego; wynik sekwencji dla wymazu z odbytnicy był niedostępny z powodu niezapisania izolatu; izolat okołodbytniczny został zinterpretowany jako wrażliwy na karbapenemy i zgodnie z protokołem sekwencjonowanie nie było wymagane.
- Wynik ujemny w hodowli dla zarówno wymazu z odbytnicy, jak i wymazu okołodbytnicznego; oba wyniki sekwencji z użyciem bulionów MacConkey'a były dodatnie pod kątem OXA-48.

17.2 Skuteczność kliniczna — izolaty bakterii

Charakterystykę testu Xpert Carba-R pod kątem izolatów bakterii określono w wieloośrodkowym badaniu klinicznym, porównując wyniki testu Xpert Carba-R z referencyjnym sekwencjonowaniem dwukierunkowym sekwencji docelowej amplifikowanego DNA. Badane próbki obejmowały izolaty bakterii wyhodowane na zarówno agarze z krwią, jak i agarze MacConkey'a.

Aby zostać uwzględnione w badaniu, izolaty musiały być uprzednio zidentyfikowane jako *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* lub *Acinetobacter baumannii*. W celu określenia czułości izolaty musiały być średniowrażliwe albo odporne na meropenem, ertapenem i/lub imipenem zgodnie z dokumentem M100-S24²² organizacji CLSI. Izolaty *Pseudomonas aeruginosa* lub *Acinetobacter baumannii* musiały być średniowrażliwe albo odporne na imipenem lub meropenem. Te drobnoustroje mają wewnętrzne mechanizmy oporności na ertapenem. W celu oceny swoistości izolaty mogły być wrażliwe lub odporne na meropenem, ertapenem i imipenem zgodnie z dokumentem M100-S24²² organizacji CLSI. Izolaty *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* powinny być wrażliwe na zarówno imipenem, jak i meropenem. W badaniu izolaty badano tylko jeden raz.

Łącznie 489 izolatów bakterii (431 klinicznych izolatów podstawowych i 58 świeżych izolatów) początkowo zarejestrowano w tym badaniu klinicznym, spośród których 485 zostało zakwalifikowanych do włączenia. Izolaty niezakwalifikowane obejmowały cztery izolaty uprzednio zarejestrowane w badaniu.

Spośród 485 zakwalifikowanych izolatów 467 izolatów (410 klinicznych izolatów podstawowych i 57 świeżych izolatów) zostało włączonych do ostatecznego zestawu służącego do analizy przedstawionej w tym raporcie; dwa izolaty zostały wykluczone, ponieważ nie wykonano testów referencyjnych; szesnaście izolatów zostało wykluczonych, ponieważ nie zostały one zidentyfikowane jako *Enterobacteriaceae*, *A. baumannii* lub *P. aeruginosa*.

Aby wykonać testy Xpert Carba-R, dobrze wyizolowane kolonie hodowane na każdym z rodzajów agarów rozcieńczono w celu uzyskania zawiesiny odpowiadającej standardowi 0,5 jednostki w skali McFarlanda z zastosowaniem metody bezpośredniej zawiesiny kolonii zgodnie z dokumentem M07-A9²³ organizacji CLSI.

Aby wykonać sekwencjonowanie referencyjne, DNA izolatów hodowli oczyszczono, zliczono i zamplifikowano z użyciem starterów swoistych dla wszystkich 5 sekwencji docelowych genów, które opracowano w taki sposób, aby amplifikowały większe regiony sekwencji docelowych testu niż startery dostępne w teście Xpert Carba-R. Wytworzenie odpowiedniej wielkości produktu amplifikacji potwierdzono przy pomocy bioanalyzera Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, Kalifornia).

Jeśli prążki przedstawione w bioanalyzerze odpowiadały oczekiwanej wielkości ampliconu dowolnej z pięciu sekwencji docelowych genów wykrywanych przez test Xpert Carba-R, wówczas amplicon izolatu przesyłano do niezależnego laboratorium w celu wykonania analizy referencyjnego sekwencjonowania dwukierunkowego, która została zatwierdzona pod kątem wykrywania pięciu sekwencji docelowych przez test Xpert Carba-R. Jeśli żadne prążki nie zostały przedstawione w bioanalyzerze dla żadnej z pięciu sekwencji docelowych genów, wówczas izolatu nie przesyłano w celu wykonania analizy sekwencji, a wynik metody referencyjnej uznawano za ujemny pod kątem pięciu sekwencji docelowych genów.

W próbkach z dziesięciu izolatów wykryto przy pomocy testu Xpert Carba-R wiele sekwencji docelowych. Tabela 7 zawiera szczegółowe informacje, a także wyniki sekwencjonowania referencyjnego.

Tabela 7. Izolaty z wieloma sekwencjami docelowymi

Izolot	Rodzaj agaru ^a	Seqwencje docelowe wykryte przez test Xpert Carba-R	Seqwencje docelowe wykryte w sekwencjonowaniu referencyjnym
1	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
2	BA	VIM, KPC	VIM
3	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
4	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
5	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
6	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
7	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
8	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
9	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
10	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48

a. BA = agar z krwią; MC = agar MacConkey'a

W przypadku izolatów z agaru z krwią test Xpert Carba-R wykazał ogólną czułość i swoistość wynoszącą odpowiednio 100,0% (95% CI: 99,0–100) i 98,1% (95% CI: 93,2–99,5) w odniesieniu do sekwencjonowania referencyjnego wykonanego z użyciem izolatów z agaru z krwią (Tabela 8). Wynik zbiorczy zdefiniowano jako dodatni w teście Xpert Carba-R, jeśli którakolwiek z sekwencji docelowych miała wynik dodatni, a jako ujemny w teście Xpert Carba-R, jeśli wszystkie sekwencje docelowe miały wynik ujemny.

Tabela 8. Test Xpert Carba-R (agar z krwią) w porównaniu z sekwencjonowaniem referencyjnym (izolat hodowany na agarze z krwią) — zbiorczo

Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	Czułość (95% CI)	Swoistość (95% CI)
Łącznie	467	364 ^a	2 ^a	101	0	100% (99,0-100)	98,1% (93,2-99,5)

- a. Wyniki zbiorcze przedstawiają wyniki według izolatu. W niektórych izolatach zaobserwowano wiele sekwencji docelowych.

W przypadku izolatów z agaru z krwią test Xpert Carba-R wykazał czułość i swoistość wynoszącą > 99% dla każdej z pięciu sekwencji docelowych w odniesieniu do sekwencjonowania referencyjnego wykonanego z użyciem izolatów z agaru z krwią (Tabela 9).

W przypadku izolatów z wynikami rozbieżnymi między testem Xpert Carba-R a sekwencjonowaniem referencyjnym badanie rozbieżności wykonano przy pomocy sekwencjonowania dwukierunkowego z użyciem izolatów z płytek z agarem MacConkey'a. Wyniki badania rozbieżności omówiono w przypisach, które zawiera Tabela 9 i Tabela 11.

Tabela 9. Test Xpert Carba-R (agar z krwią) w porównaniu z sekwencjonowaniem referencyjnym (izolat hodowany na agarze z krwią) — według sekwencji docelowej

Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	Czułość (95% CI)	Swoistość (95% CI)
IMP	467	40	1 ^a	426	0	100% (91,2-100)	99,8% (98,7-100)
VIM	467	82	1 ^b	384	0	100% (95,5-100)	99,7% (98,5-100)
NDM	467	78	0	389	0	100% (95,3-100)	100% (99,0-100)
KPC	467	84	1 ^c	382	0	100% (95,6-100)	99,7% (98,5-100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100% (95,9-100)	100% (99,0-100)

- a. Wynik sekwencjonowania dwukierunkowego DNA dla tego fałszywie dodatniego izolatu IMP wykazał 92,95% homologie sekwencji, która była nieznacznie mniejsza niż 95% kryterium odcięcia (cutoff). Nie wykonano badania rozbieżności.
- b. Wyniki badania rozbieżności: 1 z 1 miała wynik dodatni pod kątem VIM.
- c. Wynik fałszywie dodatni dla tego izolatu został prawdopodobnie spowodowany przez zanieczyszczenie krzyżowe KPC na etapie przygotowywania próbki. W ramach badania rozbieżności nie uzyskano sekwencji odpowiadającej sekwencji docelowej KPC. W ramach badania rozbieżności uzyskano sekwencję odpowiadającą sekwencji docelowej VIM, dlatego ten izolat sklasyfikowano jako TP w ocenie wyników zbiorczych, które przedstawia Tabela 8 powyżej.

W przypadku izolatów z agaru MacConkey'a test Xpert Carba-R wykazał ogólną czułość i swoistość wynoszącą odpowiednio 100% (95% CI: 99,0–100) i 97,1% (95% CI: 91,8–99,0) w odniesieniu do sekwencjonowania referencyjnego wykonanego z użyciem izolatów z agaru z krwią (Tabela 10). Wynik zbiorczy zdefiniowano jako dodatni w teście Xpert Carba-R, jeśli którakolwiek z sekwencji docelowych miała wynik dodatni, a jako ujemny w teście Xpert Carba-R, jeśli wszystkie sekwencje docelowe miały wynik ujemny.

Tabela 10. Test Xpert Carba-R (agar MacConkey'a) w porównaniu z sekwencjonowaniem referencyjnym (izolat hodowany na agarze z krwią) — zbiorczo

Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	Czułość (95% CI)	Swoistość (95% CI)
Łączone	467	364 ^a	3	100	0	100% (99,0-100)	97,1% (91,8-99,0)

a. Wyniki zbiorcze przedstawiają wyniki według izolatu. W niektórych izolatach zaobserwowano wiele sekwencji docelowych.

W przypadku izolatów z agaru MacConkey'a test Xpert Carba-R wykazał czułość i swoistość wynoszącą > 99% dla każdej z pięciu sekwencji docelowych w odniesieniu do sekwencjonowania referencyjnego wykonanego z użyciem izolatów z agaru z krwią (Tabela 11).

Tabela 11. Test Xpert Carba-R (agar MacConkey'a) w porównaniu z sekwencjonowaniem referencyjnym (izolat hodowany na agarze z krwią) — według sekwencji docelowej

Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	Czułość (95% CI)	Swoistość (95% CI)
IMP	467	40	1 ^a	426	0	100% (91,2-100)	99,8% (98,7-100)
VIM	467	82	1 ^b	384	0	100% (95,5-100)	99,7% (98,5-100)
NDM	467	78	1 ^c	388	0	100% (95,3-100)	99,7% (98,6-100)
KPC	467	84	0	383	0	100% (95,6-100)	100% (99,0-100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100% (95,9-100)	100% (99,0-100)

- a. Wynik sekwencjonowania dwukierunkowego DNA dla tego fałszywie dodatniego izolatu IMP wykazał 92,95% homologię sekwencji, która była nieznacznie mniejsza niż 95% kryterium odcięcia (cutoff). Nie wykonano badania rozbieżności.
- b. Wyniki badania rozbieżności: 1 z 1 miała wynik dodatni pod kątem VIM.
- c. Ośrodek kliniczny zgłosił, że wewnętrzna charakteryzacja tego fałszywie dodatniego izolatu przed badaniami w ramach badania dała wynik dodatni pod kątem sekwencji docelowej genu NDM. W ramach badania rozbieżności nie uzyskano sekwencji dopowiadającej którejkolwiek z 5 sekwencji docelowych genów.

Tabela 12 przedstawia skuteczność testu Xpert Carba-R według poszczególnych grup drobnoustrojów pod kątem zarówno agaru z krwią, jak i agaru MacConkey'a. Wynik ogólny zdefiniowano jako dodatni w teście Xpert Carba-R, jeśli którakolwiek z sekwencji docelowych miała wynik dodatni, a jako ujemny w teście Xpert Carba-R, jeśli wszystkie sekwencje docelowe miały wynik ujemny.

Tabela 12. Test Xpert Carba-R w porównaniu z sekwencjonowaniem referencyjnym

Podłoże	Drobnoustroje	Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	Czułość (95% CI)	Swoistość (95% CI)
Agar z krwią	<i>Enterobacteriaceae</i>	IMP	343	4	0	339	0	100% (51,0-100)	100% (98,9-100)
		VIM	343	51	1	291	0	100% (93,0-100)	99,7% (98,1-99,9)
		NDM	343	73	0	270	0	100% (95,0-100)	100% (98,6-100)
		KPC	343	83	1	259	0	100% (95,6-100)	99,6% (97,9-99,9)
		OXA-48	343	89	0	254	0	100% (95,9-100)	100% (98,5-100)
		Ogółem	343	291 ^a	1 ^a	51	0	100% (98,7-100)	98,1% (89,9-99,7)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	80	16	1	63	0	100% (80,6-100)	98,4% (91,7-99,7)
		VIM	80	31	0	49	0	100% (89,0-100)	100% (92,7-100)
		NDM	80	0	0	80	0	Nd.	100% (95,4-100)
		KPC	80	1	0	79	0	100% (20,7-100)	100% (95,4-100)
		OXA-48	80	0	0	80	0	Nd.	100% (95,4-100)
		Ogółem	80	48	1	31	0	100% (92,6-100)	96,9% (84,3-99,5)
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP	44	20	0	24	0	100% (83,9-100)	100% (86,2-100)
		VIM	44	0	0	44	0	Nd.	100% (92,0-100)
		NDM	44	5	0	39	0	100% (56,6-100)	100% (91,0-100)
		KPC	44	0	0	44	0	Nd.	100% (92,0-100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	Nd.	100% (92,0-100)
		Ogółem	44	25	0	19	0	100% (86,7-100)	100% (83,2-100)

Tabela 12. Test Xpert Carba-R w porównaniu z sekwencjonowaniem referencyjnym (ciąg dalszy)

Podłoże	Drobnoustroje	Sekwencja docelowa	N	TP	FP	TN	FN	Czułość (95% CI)	Swoistość (95% CI)
Agar MacConkey'a	<i>Enterobacteriaceae</i>	IMP	343	4	0	339	0	100% (51,0-100)	100% (98,9-100)
		VIM	343	51	1	291	0	100% (93,0-100)	99,7% (98,1-99,9)
		NDM	343	73	1	269	0	100% (95,0-100)	99,6% (97,9-99,9)
		KPC	343	83	0	260	0	100% (95,6-100)	100% (98,5-100)
		OXA-48	343	89	0	254	0	100% (95,9-100)	100% (98,5-100)
		Ogółem	343	291 ^a	2	50	0	100% (98,7-100)	96,2% (87,0-98,9)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	80	16	1	63	0	100% (80,6-100)	98,4% (91,7-99,7)
		VIM	80	31	0	49	0	100% (89,0-100)	100% (92,7-100)
		NDM	80	0	0	80	0	Nd.	100% (95,4-100)
		KPC	80	1	0	79	0	100% (20,7-100)	100% (95,4-100)
		OXA-48	80	0	0	80	0	Nd.	100% (95,4-100)
		Ogółem	80	48	1	31	0	100% (92,6-100)	96,9% (84,3-99,5)
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP	44	20	0	24	0	100% (83,9-100)	100% (86,2-100)
		VIM	44	0	0	44	0	Nd.	100% (92,0-100)
		NDM	44	5	0	39	0	100% (56,6-100)	100% (91,0-100)
		KPC	44	0	0	44	0	Nd.	100% (92,0-100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	Nd.	100% (92,0-100)
		Ogółem	44	25	0	19	0	100% (86,7-100)	100% (83,2-100)

a. Wyniki ogólne przedstawiają wyniki według izolatu. W niektórych izolatach zaobserwowano wiele sekwencji docelowych.

Wyniki testu Xpert Carba-R według fenotypu przedstawiają Tabela 13 i Tabela 14 poniżej. Wyniki fenotypów oparto na identyfikacji drobnoustrojów i wynikach badania wrażliwości dla każdego z izolatów. Wynik zbiorczy zdefiniowano jako dodatni w teście Xpert Carba-R, jeśli którakolwiek z pięciu sekwencji docelowych testu miała wynik dodatni, a jako ujemny w teście Xpert Carba-R, jeśli wszystkie z pięciu sekwencji docelowych testu miały wynik ujemny. Fenotyp niewrażliwy oznacza, że izolat był średniowrażliwy albo oporny na co najmniej jeden karbapenem. Fenotyp wrażliwy oznacza, że izolat był wrażliwy na imipenem, meropenem i ertapenem.

Tabela 13. Test Xpert Carba-R (agar z krwią) w porównaniu z fenotypami — zbiorczo

		Wyniki fenotypów		
Xpert Carba-R		Niewrażliwe	Wrażliwe	Łącznie
	Gen wykryty	356	10	366
	Gen niewykryty	95	6	101
	Łącznie	451	16	467

Tabela 14. Test Xpert Carba-R (agar MacConkey'a) w porównaniu z fenotypami — zbiorczo

		Wyniki fenotypów		
Xpert Carba-R		Niewrażliwe	Wrażliwe	Łącznie
	Gen wykryty	357	10 ^a	367
	Gen niewykryty	94 ^b	6	100
	Łącznie	451	16	467

- 10 izolatów, które są fenotypowo wrażliwe na karbapenemy, ale które mają wynik dodatni w teście Xpert Carba-R, może zawierać mutacje dezaktywujące lub obniżające ekspresję genu oporności na karbapenemy wykrytego przez test Xpert Carba-R.
- 94 izolaty, które są fenotypowo niewrażliwe na karbapenemy, ale które mają wynik ujemny w teście Xpert Carba-R, mogą zawierać inne mechanizmy oporności na karbapenemy, takie jak beta-laktamazy AmpC lub beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum w połączeniu z mutacjami poryn, lub potencjalnie inne geny oporności na karbapenemy, które nie są wykrywane przez test Xpert Carba-R.

Spośród 934 wykonanych badań (467 izolatów × 2 rodzaje agarów) jeden miał początkowy wynik **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** (0,10%, 95% CI 0,00-0,58). Izolat miał prawidłowe wyniki po powtórzeniu badania. Ogólny wskaźnik prawidłowego raportowania testu wyniósł 100% (934/934).

18 Charakterystyka analityczna testu

18.1 Czulość analityczna (granica wykrywalności) — wymazy z odbytncy i wymazy okołodbytnicze

Czulość analityczną, tj. granicę wykrywalności (LoD), testu Xpert Carba-R oceniono przy pomocy drobnoustrojów wytwarzających karbapenemazy posianych do ujemnej ludzkiej pulowanej matrycy wymazów z odbytncy i ujemnej ludzkiej pulowanej matrycy wymazów okołodbytniczych. Granicę wykrywalności określono dla dwóch szczepów bakterii wytwarzających karbapenemazy dla każdej sekwencji docelowej, tj. genów kodujących KPC, NDM, VIM, OXA-48 i IMP. Bakterie mianowano poprzez zliczanie na płycie i dodano do czystych wymazów. Wymazy umieszczono w ujemnej pulowanej matrycy wymazów z odbytncy lub ujemnej pulowanej matrycy wymazów okołodbytniczych, a następnie oceniono 20 powtórzeń w co najmniej pięciu różnych stężeniach w ciągu czterech dni. Granicę wykrywalności dla każdego z dziesięciu drobnoustrojów wytwarzających karbapenemazy określono przy pomocy analizy probitowej. Granica wykrywalności jest zdefiniowana jako najniższe stężenie komórek docelowych (CFU/wymaz), które w sposób odtwarzalny może być odróżnione od próbek ujemnych z ufnością na poziomie 95%. Badanie wykonano z użyciem dwóch różnych serii odczynników testu Xpert Carba-R, a deklarowana granica wykrywalności to wartość wyższa z dwóch uzyskanych wyników. Oszacowane granice wykrywalności zweryfikowano, przygotowując i poddając badaniom w 10 powtórzeniach próbki z dwóch niezależnych rozcieńczeń przy oszacowanych granicach wykrywalności dla każdej z bakterii.

Deklarowaną granicę wykrywalności dla każdej pary drobnoustroju wytwarzającego karbapenemazy w matrycy wymazów z odbytnicy i matrycy wymazów okołoodbytniczych przedstawia Tabela 15 i Tabela 16.

Tabela 15. Szacunkowe wartości i weryfikacja granicy wykrywalności dla drobnoustrojów zawierających geny karbapenemaz przy pomocy testu Xpert Carba-R w matrycy wymazów z odbytnicy

Sekwencja docelowa genu i drobnoustrój	Szacunkowe wartości granicy wykrywalności (analiza probitowa) CFU/wymaz		Deklarowana granica wykrywalności CFU/wymaz	Szacunkowe wartości granicy wykrywalności w odczynniku do próbek (CFU/ml)	Weryfikacja (wyniki dodatnie/20)
	Seria 1	Seria 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	174	141	174	35	20/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	303	306	306	61	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	247	305	305	61	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	815	468	815	163	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	117	251	251	50	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	74	57	74	15	19/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	373	292	373	75	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	779	537	779	156	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	154	109	154	31	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	104	99	104	21	20/20

Tabela 16. Szacunkowe wartości i weryfikacja granicy wykrywalności dla drobnoustrojów zawierających geny karbapenemaz przy pomocy testu Xpert Carba-R w matrycy wymazów okołoodbytniczych

Sekwencja docelowa genu i drobnoustrój	Szacunkowe wartości granicy wykrywalności (analiza probitowa) CFU/wymaz		Deklarowana granica wykrywalności CFU/wymaz	Szacunkowe wartości granicy wykrywalności w odczynniku do próbek CFU/ml	Weryfikacja (wyniki dodatnie/20)
	Seria 1	Seria 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	90	118	118	24	19/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	269	635	635	127	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	901	514	901	180	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	446	403	446	89	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	133	113	133	27	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	56	54	56	11	20/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	358	292	358	72	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	1259	1303	1303	261	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	223	166	223	45	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	126	137	137	27	20/20

18.2 Reaktywność analityczna (inkluzywność)

18.2.1 Badanie matryc wymazów z odbyticy i wymazów okołodbytniczych

Reaktywność analityczną testu Xpert Carba-R w przypadku matryc wymazów z odbyticy i wymazów okołodbytniczych oceniono, badając panel 72 próbek. Ten panel obejmował 11 dobrze scharakteryzowanych szczepów bakterii *bla*_{KPC} (KPC), 11 *bla*_{VIM} (VIM), 8 *bla*_{OXA-48} (OXA-48), 5 *bla*_{NDM/bla}_{OXA-181} (NDM/OXA-181), 6 *bla*_{OXA-181} (OXA-181), 17 *bla*_{IMP} (IMP) i jeden *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (KPC/VIM). Szczepy badane w matrycach wymazów z odbyticy i wymazów okołodbytniczych, a także ich stężenia testowe, przedstawia Tabela 17.

Aby wykonać badania w matrycach wymazów z odbyticy i wymazów okołodbytniczych, drobnoustroje posiano do ujemnej pulowanej matrycy wymazów z odbyticy lub ujemnej pulowanej matrycy wymazów okołodbytniczych. Wszystkie szczepy bakterii badano w trzech powtórzeniach dla obu matryc wymazów. Sekwencje docelowe genów testu Xpert Carba-R wykryto w 69 z 72 szczepów bakterii wytwarzających karbapenemazy, jednak IMP-4 wykryto tylko z zastosowaniem większego stężenia (Tabela 17). Sekwencje docelowe DNA testu Xpert Carba-R nie zostały wykryte w trzech szczepach bakterii, co przedstawia Tabela 17. W jednym z trzech szczepów bakterii gen IMP-13 nie został wykryty przez test, mimo że przewidziano jego wykrycie w analizie *in silico*. W przypadku dwóch z innych trzech szczepów bakterii w analizie *in silico* nie przewidziano wykrycia genów IMP-7 i IMP-14 i nie zostały one wykryte przez test. Patrz Punkt 15, Ograniczenia w ulotce informacyjnej.

Tabela 17. Reaktywność analityczna testu Xpert Carba-R w przypadku matryc wymazów z odbyticy i wymazów okołodbytniczych

Identyfikator szczepu	Drobnoustrój	Marker oporności z informacją o wariacie	Badane stężenie w matrycach wymazów z odbyticy i wymazów okołodbytniczych (CFU/ml)
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	153
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4	50
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	130
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2	250
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2	250
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	330
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	100
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2	300
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2	160
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2	147
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM	80
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC	70
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10	500
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	130
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	70
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	250
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM	200
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	2000
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2	500

Tabela 17. Reaktywność analityczna testu Xpert Carba-R w przypadku matryc wymazów z odbytnicy i wymazów okołodbytnicznych

Identyfikator szczepu	Drobnoustrój	Marker oporności z informacją o wariacie	Badane stężenie w matrycach wymazów z odbytnicy i wymazów okołodbytnicznych (CFU/ml)
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2	250
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4	250
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19	250
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM	500
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM	80
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1	130
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1	70
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1	30
CAN	<i>Salmonella spp.</i>	NDM-1	70
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2	40
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4	30
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5	30
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM	30
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM	50
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1	70
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	40
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	60
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	120
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	80
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	120
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	100
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	280
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
CDC0051	<i>Klebsiella ozaenae</i> ^a	OXA-181	250
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	10
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181	10

Tabela 17. Reaktywność analityczna testu Xpert Carba-R w przypadku matryc wymazów z odbytnicy i wymazów okołodbytnicznych

Identyfikator szczepu	Drobnoustrój	Marker oporności z informacją o wariacie	Badane stężenie w matrycach wymazów z odbytnicy i wymazów okołodbytnicznych (CFU/ml)
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	60
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	15
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	20
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1	250
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1720
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1	250
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1000
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	500
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	500
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	250
3994	<i>Pseudomonas spp.</i>	IMP-10	250
CDC0161	<i>Enterobacter aerogenes</i> ^a	IMP-4	5,00E+04
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2	60
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11	2000
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6	80
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 ^{b,c}	1,00E+06
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^c	1,00E+06
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{b,c}	1,00E+06

a. Te drobnoustroje nie były badane jako izolaty bakterii.

b. Geny IMP-7 i IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) nie zostały wykryte przez test i nie przewidziano ich wykrycia w analizie *in silico* (patrz Punkt 15, Ograniczenia).

c. Gen IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*): mimo że przewidziano jego wykrycie w analizie *in silico*, gen IMP-13 nie został wykryty przez test (patrz Punkt 15, Ograniczenia).

18.2.2 Badanie izolatów bakterii

Czułość analityczną testu Xpert Carba-R w przypadku izolatów bakterii również oceniono, badając panel 71 próbek obejmujących 11 dobrze scharakteryzowanych szczepów bakterii *bla*_{KPC} (KPC), 13 *bla*_{NDM} (NDM), 11 *bla*_{VIM} (VIM), 8 *bla*_{OXA-48} (OXA-48), 5 *bla*_{NDM/bla}_{OXA-181} (NDM/OXA-181), 5 *bla*_{OXA-181} (OXA-181), 17 *bla*_{IMP} (IMP) i jeden *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (KPC/VIM). Szczepy badane jako izolaty bakterii przedstawia Tabela 18.

Aby wykonać badania izolatów bakterii, drobnoustroje badano w czterech powtórzeniach, które przygotowano, rozcieńczając 10 µl zawiesiny 0,5 jednostki w skali McFarlanda komórek dla każdego szczepu bakterii w 5 ml odczynnika do próbek. Badania wykonano z użyciem zarówno płytek z agarem z krwią, jak i płytek z agarem MacConkey'a. Sekwencje docelowe genów testu Xpert Carba-R zostały wykryte w 68 z 71 szczepów bakterii z obu płytek. Sekwencje docelowe DNA testu Xpert Carba-R nie zostały wykryte w trzech szczepach bakterii, co omówiono w przypisach, które zawiera Tabela 18. W jednym z trzech szczepów bakterii gen IMP-13 nie został wykryty przez test, mimo że przewidziano jego wykrycie w analizie *in silico*. W przypadku dwóch z trzech szczepów bakterii w analizie *in silico* nie przewidziano wykrycia genów IMP-7 i IMP-14 i nie zostały one wykryte przez test. Patrz punkt „Ograniczenia” w ulotce informacyjnej.

Tabela 18. Reaktywność analityczna testu Xpert Carba-R — izolaty bakterii

Identyfikator szczepu	Drobnoustrój	Marker oporności z informacją o wariacie
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1
CAN	<i>Salmonella spp.</i>	NDM-1
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2

Tabela 18. Reaktywność analityczna testu Xpert Carba-R — izolaty bakterii (ciąg dalszy)

Identyfikator szczepu	Drobnoustrój	Marker oporności z informacją o wariacie
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1, OXA-181
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1
3994	<i>Pseudomonas spp.</i>	IMP-10
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2
G029	<i>Salmonella spp</i>	IMP-4
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6

Tabela 18. Reaktywność analityczna testu Xpert Carba-R — izolaty bakterii (ciąg dalszy)

Identyfikator szczepu	Drobnoustrój	Marker oporności z informacją o wariancie
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 ^{a,b}
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^a
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{a,b}

- a. Niewykryte przez test Xpert Carba-R (patrz Punkt 15, Ograniczenia).
 b. Geny IMP-7 i IMP-14 nie zostały wykryte przez test i nie przewidziano ich wykrycia w analizie *in silico* (patrz Punkt 15, Ograniczenia).

Wykryte warianty i prognozy dotyczące wykrycia innych podtypów każdego genu oporności na podstawie analizy *in silico* przedstawia Tabela 19 (zawierająca wyniki zarówno dla matrycy wymazów z odbytnicy, jak i badań izolatów bakterii).

Tabela 19. Podsumowanie wariantów wykrytych podczas badania na mokro lub których wykrycie przewidziano w analizie *in silico*

Marker (lub tradycyjna podgrupa)	Badanie na mokro			Niebadane, ale których wykrycie przewidziano w analizie <i>in silico</i>
	Liczba próbek	Rodzaje wykryte	Rodzaje niewykryte	
KPC	12	KPC-2, 3, 4	--	KPC-5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
NDM	18	NDM-1, 2, 4, 5	--	NDM-3, 6, 7, 8, 9
VIM	12	VIM-1, 2, 4, 10, 19	--	VIM-5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38
OXA-48	18	OXA-48, 181 (wariant OXA-48)	--	OXA-162, 163, 204, 232, 244, 245, 247
IMP	17	IMP-1 (9 szczepów), IMP-2, 4, 6, 10, 11	IMP-7 ^a , 13 ^b , 14 ^a	IMP-3, 8, 9, 13 ^b , 19, 20, 21, 22, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 33, 37, 40, 42

- a. Geny IMP-7 i IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) nie zostały wykryte przez test i nie przewidziano ich wykrycia w analizie *in silico* (patrz Punkt 15, Ograniczenia).
 b. Gen IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*) był badany: mimo że przewidziano jego wykrycie w analizie *in silico*, gen IMP-13 nie został wykryty przez test (patrz Punkt 15, Ograniczenia).

18.3 Swoistość analityczna (reakcje krzyżowe)

Swoistość analityczną testu Xpert Carba-R oceniono dla izolatów bakterii, drobnoustrojów posianych do matrycy wymazów z odbytnicy oraz drobnoustrojów posianych do matrycy wymazów okołoodbytnicznych. Dla wszystkich trzech rodzajów próbek w badaniu również oceniono panel 62 dobrze scharakteryzowanych szczepów bakterii wrażliwych na karbapenemy lub bakterii z niewrażliwością na karbapenemy spowodowaną przez geny lub mechanizmy inne niż sekwencje docelowe genów testu Xpert Carba-R (Tabela 20 i Tabela 21), a także 24 szczepy bakterii komensalnych i inne drobnoustroje jelitowe (Tabela 22). Badano również komórki ludzkie w matrycach wymazów z odbytnicy i wymazów okołoodbytnicznych (Tabela 23). Mechanizmy oporności określono przy pomocy indywidualnych testów PCR, analizy sekwencji DNA lub macierzy CT102 firmy Check-Points.

W przypadku próbek matrycy wymazów z odbyticy i matrycy wymazów okołodbytnicznych 62 szczepy badano w stężeniach $> 1 \times 10^6$ CFU/ml, z wyjątkiem szczepu *Peptostreptococcus anaerobius*, który badano w stężeniu 5×10^5 CFU/ml. Wirusy badano w mianach $> 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml lub większych niż $2,5 \times 10^7$ kopii RNA/ml. Linie komórkową raka pęcherza (ludzkie DNA genomowe) badano w stężeniu 1×10^5 komórek/ml. Drobnoustroje rozcieńczano w ujemnej pulowanej matrycy wymazów z odbyticy lub ujemnej pulowanej matrycy wymazów okołodbytnicznych i badano w trzech powtórzeniach. Żaden z badanych 94 drobnoustrojów potencjalnie powodujących reakcje krzyżowe ani kwasów nukleinowych nie został wykryty przez test Xpert Carba-R.

W przypadku izolatów bakterii drobnoustroje hodowano tlenowo na płytkach z agarem z krwią i agarem MacConkey'a. Dwie zawiesiny 0,5 jednostki w skali McFarlanda komórek przygotowano z wyizolowanych kolonii na każdym rodzaju płytki z agarem. Każdy drobnoustrój badano łącznie cztery razy (dwa powtórzenia z każdej z dwóch zawiesin 0,5 jednostki w skali McFarlanda komórek na drobnoustrój) z każdej płytki.

Nie wystąpiła żadna reakcja krzyżowa testu Xpert Carba-R z żadnym z badanych drobnoustrojów (Tabela 20, Tabela 21, Tabela 22 i Tabela 23). Swoistość analityczna testu wyniosła 100%.

Tabela 20. Liczba drobnoustrojów wrażliwych na karbapenemy i niewrażliwych na karbapenemy pod kątem każdego antybiotyku

	Ertapenem	Imipenem	Meropenem
Wrażliwe	19	30	24
Średniowrażliwy	0	8	4
Oporny	43	24	34

Tabela 21. Panel reakcji krzyżowych

Drobnoustrój	Identyfikator szczepu	Potwierdzone mechanizmy oporności	Wrażliwość na karbapenemy (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 13441	CTX-M (-1, podobny do typu -15); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13465	CTX-M (25)	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	810	Deficyt OmpC/OmpF; TEM	R	R	R
<i>Citrobacter freundii</i>	1698	TEM (WT + 164S)	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	5557	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn5	CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn12	TEM; SHV; CTX-M	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco1	TEM; CTX-M-2	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco2	CTX-M (2); TEM; OXA-2	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	cor1	CTX-M (2); TEM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	hpp21	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Morganella morganii</i>	fer29	CTX-M (2); TEM	S	R	S
<i>Proteus mirabilis</i>	gut25	CTX-M (2); TEM	S	R	S
<i>Salmonella spp.</i>	3209	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Shigella flexnerii</i>	3331	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_3	AmpC; CTX-M-15; TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32189	SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32443	CTX-M (-1, podobny do typu -15); SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32598	CTX-M (-1, podobny do typu -15); SHV; TEM	R	I	R

Tabela 21. Panel reakcji krzyżowych (ciąg dalszy)

Drobnoustrój	Identyfikator szczepu	Potwierdzone mechanizmy oporności	Wrażliwość na karbapenemy (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33560	CTX-M (15); SHV-11; TEM-1	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33603	SHV-2	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33617	SHV-27	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33643	SHV (-5, -55); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34430	SHV; TEM; CTX-M-15	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34680	TEM; CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34732	CTX-M (15); SHV; TEM	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_174	GX-/hodowla+; SHV; TEM	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 645	SHV (WT + 238S + 240K)	R	S	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 669	SHV (WT + 238S + 240K)	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	C3015	AmpC (CMY II); TEM	R	R	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	RI_100	AmpC (DHA); SHV	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B4A	SHV (WT + 238S + 240K)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B13A	SHV (WT + 238S + 240K)	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	RI_474	AmpC (ACT/MIR)	R	I	I
<i>Enterobacter amnigenus</i>	B71	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DD82A	SHV (WT + 238S + 240K)	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B100	CTX-M (-1, podobny do typu -15); SHV (WT + 238S); TEM	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	135B	TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B157	SHV; TEM	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	T2914280	CTX-M (-1, -15); TEM	R	S	R
<i>Providencia stuartii</i>	DD188	TEM (104K + 164S)	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	DD189	AmpC (ACT/MIR)	R	S	S
<i>Escherichia coli</i>	B198B	CTX-M (-1, podobny do typu -15); TEM	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-1	CTX-M (-1, podobny do typu -15); SHV	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-2	CTX-M (-1, podobny do typu -15); SHV	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	ENC-THAI14	VEB-1, TEM	S	S	S
<i>Escherichia coli</i>	CB154006	CTX-M (9); TEM	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	S35766	AmpC (ACT/MIR)	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	X1856910	AmpC (ACT/MIR); TEM	R	I	I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3758164	CTX-M (-1, podobny do typu -15); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	X2135758	CTX-M (-1, podobny do typu -15); SHV	R	S	S

Tabela 21. Panel reakcji krzyżowych (ciąg dalszy)

Drobnoustrój	Identyfikator szczepu	Potwierdzone mechanizmy oporności	Wrażliwość na karbapenemy (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3809535	CTX-M (-1, podobny do typu -15); SHV	R	R	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CDC0064	SPM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0099	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0121	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0122	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0123	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0124	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0130	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0131	SME	R	R	R
Grupa <i>Enterobacter cloacae</i>	CDC0132	IMI	R	R	R
Kompleks <i>Enterobacter cloacae</i>	CDC0164	IMI	R	R	R

a. S/I/R = wrażliwy/średniowrażliwy/oporny, ETP = ertapenem, IMP = imipenem, MEM = meropenem

Tabela 22. Panel reakcji krzyżowych (drobnoustroje komensalne i inne drobnoustroje jelitowe)

Identyfikator szczepu	Drobnoustrój	Badane stężenie (CFU/ml, o ile nie określono inaczej)
ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>	2,67E+06
ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	3,15E+06
ATCC 700603	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,20E+06
ATCC 35218	<i>Escherichia coli</i>	2,47E+06
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,53E+06
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,17E+06
ATCC 9689	<i>Clostridium difficile</i> ^a	1,80E+07
ATCC 700621	<i>Enterobacter cloacae</i>	8,95E+06
ATCC 9756	<i>Enterococcus faecium</i>	6,54E+06
ATCC 13182	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4,76E+06
ATCC BAA-747	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2,27E+06
ATCC 33128	<i>Citrobacter freundii</i>	2,01E+06
ATCC 49948	<i>Morganella morganii</i>	8,19E+06
ATCC 51331	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3,15E+06
ATCC 27028	<i>Citrobacter koseri</i>	5,05E+06
ATCC 49809	<i>Providencia stuartii</i>	3,01E+06
ATCC 49037	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	5,00E+05
CCUG 29780 / ATCC 12401	<i>Streptococcus agalactiae</i>	5,21E+06
ATCC 15703	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ^a	1,10E+08

Tabela 22. Panel reakcji krzyżowych (drobnoustroje komensalne i inne drobnoustroje jelitowe) (ciąg dalszy)

Identyfikator szczepu	Drobnoustrój	Badane stężenie (CFU/ml, o ile nie określono inaczej)
ATCC 51697	<i>Enterobacter aerogenes</i>	3,19E+06
ATCC 43071	<i>Proteus mirabilis</i>	1,78E+06
CCUG 34787	<i>Acinetobacter spp.</i>	2,40E+06
CCUG 418	<i>Citrobacter freundii</i>	2,95E+06
CCUG 33629	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	4,48E+06
CCUG 17874	<i>Helicobacter pylori</i>	1,61E+06
CCUG 33548	<i>Listeria monocytogenes</i>	4,77E+06
CCUG 6325	<i>Providencia alcalifaciens</i>	4,91E+06
CCUG 43594 / ATCC 33560	<i>Campylobacter jejuni</i> ^a	3,27E+06
MRVP/ZeptoMetrix	Adenowirus B typu 7A/NY ^a	1,40E+05 TCID ₅₀ /ml
MRVP/ZeptoMetrix	Enterowirus typu 71/NY ^a	4,40E+05 TCID ₅₀ /ml
Próbka kliniczna — Cepheid	Norowirus GI ^a	2,5 × 10 ⁷ kopii RNA/ml

a. Te drobnoustroje badano w matrycy wymazów z odbytnicy i wymazów okołoodbytniczych.

Tabela 23. Linia komórkowa reprezentująca ludzkie DNA genomowe

Nazwa drobnoustroju	Źródło
Linia komórkowa raka pęcherza (hgDNA)	ATCC HTB-4

18.4 Interferencja konkurencyjna

Badanie interferencji konkurencyjnej wykonano w celu sprawdzenia, czy duże miano co najmniej jednego drobnoustroju wytwarzającego karbapenemazy mogłoby spowodować interferencję wykrywania sekwencji docelowej drugiego drobnoustroju wytwarzającego karbapenemazy, występującego z małym mianem. Próbkę z dużym mianem przygotowano w stężeniach 5×10^6 CFU/wymaz, a sekwencje docelowe z małym mianem przygotowano w stężeniu około $2 \times \text{LoD}$ dla odpowiedniego szczepu w matrycy wymazów z odbytnicy lub matrycy wymazów okołoodbytniczych. W tym badaniu użyto jednego szczepu bakterii wytwarzającej karbapenemazy dla każdej sekwencji docelowej, tj. genów kodujących KPC, NDM, VIM, OXA-48 i IMP. Każdy rodzaj szczepu bakterii wytwarzającej karbapenemazy badano z małym mianem w połączeniu z dużym mianem jednego lub dwóch innych rodzajów szczepów bakterii wytwarzającej karbapenemazy (Tabela 24). Próbkę badano w ośmiu powtórzeniach.

W przypadku próbek badanych w matrycy wymazów z odbytnicy działanie hamujące zaobserwowano dla trzech z pięciu sekwencji docelowych (IMP, VIM i OXA-48) w sytuacji, gdy niskie stężenie każdej sekwencji docelowej było obecne w połączeniu z wysokim stężeniem jednej lub dwóch innych sekwencji docelowych. W przypadku próbek w matrycy wymazów z odbytnicy trzy sekwencje docelowe (IMP, VIM i OXA-48) badano w wyższym stężeniu ($4 \times \text{LoD}$) w połączeniu z wysokim stężeniem jednej lub dwóch innych sekwencji docelowych. W przypadku testu Xpert Carba-R nie zaobserwowano działania hamującego dla trzech sekwencji docelowych (IMP, VIM i OXA-48) w stężeniu $4 \times \text{LoD}$ w obecności klinicznie istotnych zakażeń równoczesnych.

W przypadku próbek badanych w matrycy wymazów okołoodbytniczych działanie hamujące zaobserwowano dla dwóch z pięciu sekwencji docelowych (NDM i IMP) w sytuacji, gdy niskie stężenie każdej sekwencji docelowej było obecne w połączeniu z wysokim stężeniem jednej lub dwóch innych sekwencji docelowych. W przypadku próbek w matrycy wymazów okołoodbytniczych dwie sekwencje docelowe (NDM i IMP) badano w wyższym stężeniu ($4 \times \text{LoD}$) w połączeniu z wysokim stężeniem jednej lub dwóch innych sekwencji docelowych. W przypadku testu Xpert Carba-R nie zaobserwowano działania hamującego dla dwóch sekwencji docelowych (NDM i IMP) w stężeniu $4 \times \text{LoD}$ w obecności klinicznie istotnych zakażeń równoczesnych.

Informacje o działaniu hamowania konkurencyjnego dla sekwencji docelowych testu Carba-R (NDM, IMP, VIM i OXA-48) można znaleźć w punkcie Punkt 15, Ograniczenia w ulotce informacyjnej.

Tabela 24. Kombinacje bakterii wytwarzających karbapenemazy badanych przy pomocy testu Xpert Carba-R

Kombinacja
Wys. KPC / Wys. NDM / Nis. VIM
Wys. KPC / Wys. NDM / Nis. OXA
Wys. KPC / Wys. NDM / Nis. IMP
Wys. VIM / Wys. OXA / Nis. KPC
Wys. VIM / Wys. OXA / Nis. NDM
Wys. VIM / Wys. OXA / Nis. IMP
Wys. IMP / Nis. KPC
Wys. IMP / Nis. NDM
Wys. IMP / Nis. VIM
Wys. IMP / Nis. OXA
Wys. OXA / Nis. VIM
Wys. VIM / Nis. OXA
Wys. KPC / Nis. NDM
Ujemna

18.5 Potencjalnie interferujące substancje

Skuteczność testu Xpert Carba-R oceniono z użyciem 24 potencjalnie interferujących substancji, które mogą występować w próbkach wymazów z odbyticy i wymazów okołodbytniczych. Roztwory potencjalnie interferujących substancji (IS) przygotowano i badano w stężeniach, które wymienia Tabela 25. W badaniu uwzględniono próbki dodatnie i ujemne. Próbki dodatnie obejmowały mieszaninę pięciu drobnoustrojów wytwarzających karbapenemazy zawierających sekwencje genów KPC, NDM, VIM, IMP-1 i OXA-48, posianych do ujemnej pulowanej matrycy wymazów z odbyticy lub ujemnej pulowanej matrycy wymazów okołodbytniczych w stężeniu około $3 \times \text{LoD}$. Na każdą substancję badano osiem powtórzeń próbek dodatnich. Próbki ujemne obejmowały ujemną pulowaną matrycę wymazów z odbyticy lub ujemną pulowaną matrycę wymazów okołodbytniczych bez posiewu drobnoustrojów wytwarzających karbapenemazy. Osiem powtórzeń próbek ujemnych badano dla każdej substancji w celu określenia wpływu na skuteczność kontroli przetwarzania próbki (SPC). Kontrole obejmowały próbki dodatnie i ujemne bez dodatku substancji interferujących. Wpływ każdej potencjalnie interferującej substancji na powtórzenia próbek dodatnich i ujemnych oceniono, porównując wartości cyklu progowego (Ct) sekwencji docelowych uzyskanych w obecności substancji z wartościami Ct dla kontroli niezawierających substancji.

Powtórzenia próbek dodatnich i ujemnych dla 22 potencjalnie interferujących substancji zostały poprawnie zidentyfikowane przy pomocy testu Xpert Carba-R. Interferencja testu Xpert Carba-R może zostać zaobserwowana w przypadku siarczanu baru w stężeniu $> 0,1\%$ wag./obj. i substancji Pepto-Bismol w stężeniu $> 0,01\%$ wag./obj. w badaniach z użyciem próbek matrycy wymazów z odbyticy. Patrz Punkt 15, Ograniczenia w ulotce informacyjnej. W przypadku próbek matrycy wymazów z odbyticy, dodatnich pod kątem mieszaniny pięciu drobnoustrojów wytwarzających karbapenemazy zawierających sekwencje genów KPC, NDM, VIM, IMP-1 i OXA-48, które badano z tłuszczem w kale w stężeniu $0,25\%$ wag./obj., nie uzyskano żadnych wyników fałszywie ujemnych, ale zaobserwowano opóźnione wartości cyklu progowego dla sekwencji docelowej VIM. Ta potencjalna interferencja wynikająca z obecności $0,25\%$ wag./obj. tłuszczu w kale została omówiona w punkcie „Ograniczenia” w ulotce informacyjnej. Interferencja testu Xpert Carba-R może zostać zaobserwowana w przypadku siarczanu baru w stężeniu $> 0,1\%$ wag./obj. i substancji Pepto-Bismol w stężeniu $> 0,025\%$ wag./obj. w badaniach z użyciem próbek matrycy wymazów okołodbytniczych. Patrz Punkt 15, Ograniczenia.

Tabela 25. Badane potencjalnie interferujące substancje

Substancja/klasa	Składnik aktywny	Badane stężenie
Niesteroidowy lek przeciwzapalny	Naproksen	0,25% wag./obj.
Związek chemiczny do obrazowania	Siarczan baru	0,25% i 0,1% wag./obj.
Antybiotyk (doustny)	Cefaleksyna	0,25% wag./obj.
Antybiotyk (doustny)	Cyprofloksacyna	0,25% wag./obj.
Prezerwatywa ze środkiem plemnikobójczym	Nonoksynol-9	1 prezerwatywa ^a
Kremy / maści / czopki	Hydrokortyzon	0,25% wag./obj.
Środek rozwalniający	Sennozydy	0,25% wag./obj.
Lipidy	Kwas stearynowy / kwas palmitynowy / cholesterol (tłuszcz w kale)	0,25% wag./obj.
Lek przeciwbiegunkowy	Chlorowodorek loperamidu / zasadowy salicylan bizmutawy (Imodium)	0,25% wag./obj.
Lek przeciwbiegunkowy	Chlorowodorek loperamidu / zasadowy salicylan bizmutawy (Kaopectate)	0,25% wag./obj.
Krem do stosowania miejscowego	K-Y Jelly	0,25% wag./obj.
Środki zobojętniające kwas	Węglan wapnia / wodorotlenek glinu / wodorotlenek magnezu / symetykon (mleko magnezjowe)	0,25% wag./obj.
Lewatywa	Olej mineralny	0,25% wag./obj.
Antybiotyk (miejscowy)	Polimiksyn B / neomycyna / bacytracyna (Neosporin)	0,25% wag./obj.
Dopochwowe leki przeciwgrzybicze/ przeciwświądowe	Nystatyna	0,25% wag./obj.
Środek zobojętniający kwas	Famotydyna (Pepcid)	0,25% wag./obj.
Lek przeciwbiegunkowy	Chlorowodorek loperamidu / zasadowy salicylan bizmutawy (Pepto-Bismol)	0,25%, 0,1%, 0,05%, 0,025%, 0,01% wag./obj.
Krem do stosowania miejscowego	Wazelina	0,25% wag./obj.

Tabela 25. Badane potencjalnie interferujące substancje (ciąg dalszy)

Substancja/klasa	Składnik aktywny	Badane stężenie
Kremy/maści przeciwko hemoroidom	Fenylefryna (Preparation H)	0,25% wag./obj.
Środek zobojętniający kwas	Omeprazol (Prilosec)	0,25% wag./obj.
Lewatywa	Sól fizjologiczna do lewatywy	0,25% wag./obj.
Środek zobojętniający kwas	Cymetydyna (Tagamet)	0,25% wag./obj.
Dopochwowe leki przeciwgrzybicze/ przeciwswiądowe	Benzokaina, rezorcyna (Vagisil)	0,25% wag./obj.
Chusteczki nawilżane	Chlorek benzalkoniowy, etanol (Wet Ones)	1 sztuka ^b

a. Jedna prezerwatywa dodana do 40 ml matrycy wymazów.

b. Jedna sztuka (5 cali × 7,5 cala) dodana do 40 ml matrycy wymazów.

18.6 Badanie przenoszenia zanieczyszczeń

Przeprowadzono badanie mające na celu wykazanie, że samowystarczalne jednorazowe kartridże GeneXpert zapobiegają przenoszeniu zanieczyszczeń do próbek ujemnych badanych po wykonaniu badań próbek bardzo wysoko dodatnich. Badanie obejmowało przetworzenie próbki ujemnej w tym samym module aparatu GeneXpert bezpośrednio po próbce bardzo wysoko dodatniej. Próbka wysoko dodatnia obejmowała zdezaktywowane komórki *E. coli* zawierające plazmid z insercją składającą się z syntetycznego oligonukleotydu sekwencji ampliconu z pięciu genów sekwencji docelowych testu Xpert Carba-R (sekwencji docelowych KPC, NDM, VIM, IMP i OXA-48). Komórki dodatnie rozcieńczono w ujemnej pulowanej matrycy wymazów z odbyticy i matrycy wymazów okołoodbytniczych, aby uzyskać stężenie 1×10^6 CFU/ml. W przypadku matrycy wymazów z odbyticy i matrycy wymazów okołoodbytniczych schemat badania powtórzono 25 razy w dwóch modułach aparatu GeneXpert, wykonując łącznie 102 badania (25 próbek wysoko dodatnich na moduł i 26 próbek ujemnych na moduł). W przypadku wszystkich z 50 próbek dodatnich wszystkie sekwencje docelowe testu Xpert Carba-R zostały poprawnie zgłoszone jako **WYKRYTO (DETECTED)**, a w przypadku wszystkich z 52 próbek ujemnych wszystkie sekwencje docelowe testu Xpert Carba-R zostały poprawnie zgłoszone jako **NIE WYKRYTO (NOT DETECTED)** dla każdego badanego rodzaju matrycy.

19 Odtwarzalność

19.1 Badanie matryc wymazów z odbyticy i wymazów okołoodbytniczych

Odtwarzalność testu Xpert Carba-R oceniono, używając dwóch paneli 11 próbek — jednego przygotowanego w ujemnej pulowanej matrycy wymazów z odbyticy i jednego przygotowanego w ujemnej pulowanej matrycy wymazów okołoodbytniczych. Dwóch operatorów w każdym z trzech ośrodków badania wykonywało jeden panel 11 próbek w czterech powtórzeniach na dzień przez sześć dni badań (11 próbek × 2 powtórzenia × 2 razy/dzień × 6 dni × 2 operatorów × 3 ośrodki). W każdym z 3 ośrodków badania użyto trzech serii kartridży testu Xpert Carba-R. Testy Xpert Carba-R wykonywano zgodnie z procedurą testu Xpert Carba-R. Podsumowanie wyników zawiera Tabela 26.

Tabela 26. Podsumowanie wyników odtwarzalności — % zgodność, matryce wymazów z odbyticy i wymazów okołoodbytniczych

Próbka	Ma-tryca ^a	Ośrodek 1			Ośrodek 2			Ośrodek 3			% łączna zgodność wg próbki
		Oper-ator 1	Oper-ator 2	Ośro-dek	Oper-ator 1	Oper-ator 2	Ośro-dek	Oper-ator 1	Oper-ator 2	Ośro-dek	
Ujemne	R	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
IMP — śr. dod.	R	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
IMP — nis. dod.	R	91,7% (22/24)	87,5% (21/24)	89,5% (43/48)	83,3% (20/24)	87,5% (21/24)	85,4% (41/48)	87,5% (21/24)	79,2% (19/24)	83,3% (40/48)	86,1% (124/144)
VIM — śr. dod.	R	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
VIM — nis. dod.	R	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)

Tabela 26. Podsumowanie wyników odtwarzalności — % zgodność, matryce wymazów z odbytnicy i wymazów okołodbytnicznych (ciąg dalszy)

Próbka	Ma-tryca ^a	Ośrodek 1			Ośrodek 2			Ośrodek 3			% łączna zgodność wg próbki
		Oper-ator 1	Oper-ator 2	Ośro-dek	Oper-ator 1	Oper-ator 2	Ośro-dek	Oper-ator 1	Oper-ator 2	Ośro-dek	
NDM — śr. dod.	R	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
NDM — nis. dod.	R	91,7% (22/24)	95,8% (23/24)	93,8% (45/48)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,8% (46/48)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	95,1% (137/144)
KPC — śr. dod.	R	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
KPC — nis. dod.	R	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,8% (46/48)	96,5% (139/144)
OXA-48— śr. dod.	R	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
OXA-48— nis. dod.	R	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	95,8% (46/48)	97,2% (140/144)
Ujemne	PR	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
IMP — śr. dod.	PR	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
IMP — nis. dod.	PR	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	93,8% (45/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	96,5% (139/144)
VIM — śr. dod.	PR	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
VIM — nis. dod.	PR	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	91,7% (44/48)	95,8% (23/24)	83,3% (20/24)	89,6% (43/48)	92,4% (133/144)
NDM — śr. dod.	PR	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
NDM — nis. dod.	PR	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	87,5% (21/24)	100% (24/24)	93,8% (45/48)	97,9% (141/144)
KPC — śr. dod.	PR	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
KPC — nis. dod.	PR	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	91,7% (44/48)	91,7% (22/24)	95,8% (23/24)	93,8% (45/48)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	93,8% (135/144)
OXA-48— śr. dod.	PR	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
OXA-48— nis. dod.	PR	87,5% (21/24)	87,5% (21/24)	87,5% (42/48)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,8% (46/48)	93,8% (135/144)

a. R = z odbytnicy, PR = okołodbytniczny

Odtwarzalność testu Xpert Carba-R oceniono również pod kątem sygnału fluorescencji wyrażonego w wartościach Ct dla każdej wykrytej sekwencji docelowej. Średnią, odchylenie standardowe (SD) i współczynnik zmienności (CV) między ośrodkami, między numerami serii odczynnika, między dniami, między operatorami i wewnątrz testów dla każdego elementu panelu przedstawia Tabela 27.

Tabela 27. Podsumowanie danych odtwarzalności — matryce wymazów z odbytnicy i wymazów okołodbytnicznych

Próbka	Matryca ^a	Kanał testu (sekwencja docelowa)	N ^b	Średnia Ct	Między ośrodkami		Między numerami serii odczynnika		Między dniami		Między operatorami		Wewnątrztestowa		Łącznie	
					SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Ujemne	R	SPC	144	32,9	0,2	0,5	0,2	0,7	0,0	0,1	0,0	0	0,6	1,8	0,7	2,0
IMP — śr. dod.	R	IMP	144	34,5	0,0	0,0	0,2	0,5	0	0,0	0,1	0,2	0,7	2,0	0,7	2,1
IMP — nis. dod.	R	IMP	140	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,0	0	1,2	3,3	1,2	3,4
VIM — śr. dod.	R	VIM	144	31,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,6	0,6	1,9
VIM — nis. dod.	R	VIM	144	33,8	0,0	0,0	0,6	1,8	0,3	0,9	0,3	1,0	1,4	4,0	1,6	4,6
NDM — śr. dod.	R	NDM	144	33,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,6	1,7	0,6	1,7
NDM — nis. dod.	R	NDM	143	36,2	0,2	0,7	0,0	0,0	0,3	0,7	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,5
KPC — śr. dod.	R	KPC	144	34,2	0,0	0,0	0,3	0,8	0,2	0,6	0,0	0,0	0,4	1,2	0,6	1,6
KPC — nis. dod.	R	KPC	141	35,8	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	0,3	0,9	0,7	1,9	0,9	2,6
OXA-48 — śr. dod.	R	OXA-48	144	34,3	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,1	0,3	0,5	1,6	0,6	1,7
OXA-48 — nis. dod.	R	OXA-48	143	36,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,4
Ujemne	PR	SPC	144	32,7	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
IMP — śr. dod.	PR	IMP	144	33,7	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,5	1,6
IMP — nis. dod.	PR	IMP	142	36,0	0,2	0,5	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2	0,5	0,8	2,1	0,8	2,3
VIM — śr. dod.	PR	VIM	144	31,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,0	0,1	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5
VIM — nis. dod.	PR	VIM	142	35,0	0,0	0,0	0,6	1,6	0,0	0,0	0,6	1,7	1,4	4,1	1,6	4,7
NDM — śr. dod.	PR	NDM	144	33,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
NDM — nis. dod.	PR	NDM	143	35,7	0,2	0,5	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,9	2,4	0,9	2,5
KPC — śr. dod.	PR	KPC	144	34,6	0,0	0,0	0,3	1,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,6	1,7
KPC — nis. dod.	PR	KPC	143	36,4	0,0	0,0	0,5	1,3	0,1	0,4	0,0	0,0	0,7	2,0	0,9	2,4
OXA-48 — śr. dod.	PR	OXA-48	144	34,4	0,1	0,2	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,6	1,7
OXA-48 — nis. dod.	PR	OXA-48	144	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,2	0,0	0,0	1,0	2,7	1,1	2,9

- a. R = z odbytnicy, PR = okołodbytniczny
b. Wyniki o wartości Ct innej niż zero spośród 144.

19.2 Badanie izolatów bakterii

Odtwarzalność testu Xpert Carba-R oceniono z użyciem panelu 13 próbek bakterii obejmujących: dwa różne drobnoustroje na każdą z pięciu sekwencji docelowych genów oporności wykrywanych przez test Xpert Carba-R; dwie próbki podstawowe obejmujące dwie sekwencje docelowe genów; jedną próbkę podstawową ujemną pod kątem wszystkich pięciu sekwencji docelowych genów. Dwóch operatorów w każdym z trzech ośrodków badania wykonywało jeden panel 13 próbek w czterech powtórzeniach na dzień. Każdej próbki użyto do przygotowania dwóch zawiesin 0,5 jednostki w skali McFarlanda, z których dwa powtórzenia badano przez sześć dni badań (13 próbek × 2 powtórzenia × 2 razy/dzień × 6 dni × 2 operatorów × 3 ośrodki). W każdym z 3 ośrodków badania użyto trzech serii kartridży testu Xpert Carba-R. Testy Xpert Carba-R wykonywano zgodnie z procedurą testu Xpert Carba-R. Po zakończeniu badań 25 badań wykonanych w jednym module aparatu zostało wykluczonych, co dało łącznie 1847 próbek uwzględnionych w analizie. Podsumowanie wyników zawiera Tabela 28.

Tabela 28. Podsumowanie wyników odtwarzalności — % zgodność, izolaty bakterii

Gen oporności (nr próbki)	Ośrodek 1			Ośrodek 2			Ośrodek 3			% łączna zgodność wg próbki
	Operator 1	Operator 2	Ośrodek	Operator 1	Operator 2	Ośrodek	Operator 1	Operator 2	Ośrodek	
KPC (1)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
KPC (2)	100% (23/23)	100% (22/22)	100% (45/45)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	99,3% (140/141)
VIM (1)	100% (22/22)	100% (23/23)	100% (45/45)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (141/141)
VIM (2)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (46/46)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (142/142)
IMP (1)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (47/47)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (143/143)
IMP (2)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (46/46)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (142/142)
OXA (1)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (46/46)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (46/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	98,6% (140/142)
OXA (2)	100% (23/23)	100% (22/22)	100% (45/45)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (141/141)
NDM (1)	100% (22/22)	100% (21/21)	100% (43/43)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (139/139)
NDM (2)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (46/46)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	95,8% (46/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	98,6% (140/142)
OXA, NDM (1)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (47/47)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (143/143)
OXA, NDM (2)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (47/47)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (143/143)
Ujemny	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)

Odtwarzalność testu Xpert Carba-R oceniono również pod kątem sygnału fluorescencji wyrażonego w wartościach Ct dla każdej wykrytej sekwencji docelowej. Średnią, odchylenie standardowe (SD) i współczynnik zmienności (CV) między ośrodkami, między numerami serii odczynnika, między dniami, między operatorami i wewnątrz testów dla każdego elementu panelu przedstawia Tabela 29.

Tabela 29. Podsumowanie danych odtwarzalności — izolaty bakterii

Gen oporności (nr próbki)	Kanał testu (sekwencja docelowa)	N ^a	Między ośrodkami		Między numerami serii odczynnika		Między dniami		Między operatorami		Wewnątrz-testowa		Łącznie	
			SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
KPC (1)	KPC	144	1,1	4,4	0	0	0	0	0,6	2,6	0,6	2,6	1,4	5,8
KPC (2)	KPC	143	0,8	3,1	0,1	0,2	0,2	0,9	0,5	2,0	0,8	3,1	1,2	4,9
VIM (1)	VIM	141	1,1	5,1	0	0	0	0	0,5	2,3	0,8	3,7	1,5	6,7
VIM (2)	VIM	142	0,3	1,3	0,2	0,8	0	0	0,8	3,8	0,7	3,1	1,1	5,1
IMP (1)	IMP	143	0,3	1,0	0	0	0,3	1,2	0,6	2,3	0,8	3,1	1,0	4,2
IMP (2)	IMP	142	1,4	6,3	0,1	0,5	0	0	0,6	2,8	0,7	3,2	1,7	7,6
OXA (1)	OXA48	140	0,6	2,6	0	0	0	0	0,7	2,8	0,8	3,5	1,2	5,2
OXA (2)	OXA48	141	1,1	4,9	0,3	1,5	0	0	0,5	2,0	0,7	3,3	1,5	6,4
NDM (1)	NDM	139	1,2	5,3	0	0	0	0	0,6	2,4	0,7	3,1	1,5	6,6
NDM (2)	NDM	140	0,9	4,0	0,3	1,4	0	0	0,8	3,3	0,8	3,3	1,5	6,3
NDM/OXA (1)	NDM	143	1,3	5,4	0,2	0,8	0	0	0,6	2,5	0,7	3,1	1,6	6,8
	OXA48	143	1,2	6,2	0,3	1,4	0	0	0,5	2,4	0,7	3,7	1,5	7,7
NDM/OXA (2)	NDM	143	1,2	5,3	0,2	1,1	0	0	0,5	2,4	0,8	3,5	1,6	6,9
	OXA48	143	1,2	6,0	0,2	1,2	0	0	0,5	2,5	0,7	3,8	1,5	7,6
Ujemny	SPC	144	0,1	0,3	0,1	0,3	0	0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5

a. Wyniki o wartości Ct innej niż zero spośród 144.

20 Piśmiennictwo

1. Kallen AJ, et al. 2010. Current epidemiology of multidrug-resistant gram-negative bacilli in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 31 Suppl 1: S51–54.
2. Nordmann P, et al. 2012. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: a call for action! *Clin Microbiol Infect.* 18: 411–412.
3. Cornaglia G, et al. 2011. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis.* 11: 381–393.
4. Kitchel B, et al. 2009. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in the United States: Clonal expansion of MLST sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:3365–3370.
5. Schwaber MJ, et al. 2011. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis.* 52: 848–855.
6. Kumarasamy KK, et al. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 10: 597–602.
7. Cuzon G, et al. 2008. Plasmid-encoded carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase OXA-48 in an imipenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain from Belgium. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 3463–3464.
8. Nordmann P, et al. 2011. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* 17: 1791–1798.
9. Grundmann H, et al. 2010. Carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill.* 15:1-13.
10. van Duin D, et al. 2016. Ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam: second-generation β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations. *Clin Infect Dis.* 63(2):234-241.
11. Falcone M, Paterson D. 2016. Spotlight on ceftazidime/avibactam: a new option for MDR gram-negative infections. *J Antimicrob.* 71(10):2713-2722.
12. Navas, M and Jacobs M. 2016. Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* - A review for laboratorians. American Association for Clinical Chemistry (AACC) Clinical Laboratory News.
13. Vasoo S, et al. 2015. In vitro activities of ceftazidime-avibactam, aztreonam-avibactam, and a panel of older and contemporary antimicrobial agents against carbapenemase-producing gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(12:7842-7846).
14. Avycaz package insert. Section 14.2 Microbiology.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
16. Centers for Disease Control and Prevention. Accessed January 20, 2016. Healthcare-associated Infections (HAIs). <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-facilities.html>
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
18. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
19. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
20. CLSI M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA (refer to latest edition).
21. CLSI M07-A10. 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Tenth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
22. CLSI M100-S24. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
23. CLSI M07-A9. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Ninth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.

21 Lokalizacja siedziby głównej firmy Cepheid

Siedziba główna firmy

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Stany Zjednoczone
Telefon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Siedziba główna w Europie

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francja
Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Pomoc techniczna

Przed skontaktowaniem się z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid, zbierz następujące informacje:

- Nazwa produktu
- Numer serii
- Numer seryjny aparatu
- Komunikaty o błędach (jeśli występują)
- Wersja oprogramowania i numer znacznika serwisowego komputera (w odpowiednim przypadku)







Informacje kontaktowe

Stany Zjednoczone
Telefon: + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cepheid.com

Francja
Telefon: + 33 563 825 319
Email: support@cepheideurope.com

Dane kontaktowe wszystkich Centrów wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Nie używać ponownie
	Upoważniony przedstawiciel w Unii Europejskiej
	Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii
	Importer
	Kod serii
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Przeostoga
	Producent
	Kraj produkcji
	Zawiera ilość wystarczającą do wykonania <n> badań
	Kontrola
	Data ważności
	Zakres temperatury
	Zagrozenie biologiczne
	Ostrzezenie
	Oznaczenie CE — zgodność z wymogami UE



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Telefon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe S.A.S.
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francja
Tel.: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301
E-mail support@cepheideruope.com



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



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



