

Xpert® SA Nasal Complete

REF GXSACOMP-120

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

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

© 2013-2023 Cepheid.

Déclarations sur les marques de commerce, les brevets et le droit d'auteur

Cepheid[®], le logo Cepheid, GeneXpert[®] et Xpert[®] sont des marques commerciales de Cepheid enregistrées aux États-Unis et dans d'autres pays.

Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.

L'ACHAT DE CE PRODUIT CONCÈDE À L'ACHETEUR LE DROIT NON TRANSFÉRABLE DE L'UTILISER CONFORMÉMENT À CETTE NOTICE D'UTILISATION. AUCUN AUTRE DROIT N'EST CONCÉDÉ QUE CE SOIT EXPRESSÉMENT, DE FAÇON IMPLICITE OU PAR PRÉCLUSION. DE PLUS, AUCUN DROIT DE REVENTE N'EST CONCÉDÉ AVEC L'ACHAT DE CE PRODUIT.

© 2013-2023 Cepheid.

Xpert[®] SA Nasal Complete

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. Nome registrato

Xpert[®] SA Nasal Complete

2. Nome comune o usuale

Saggio Xpert SA Nasal Complete

3. Uso previsto

Il saggio Cepheid[®] Xpert SA Nasal Complete eseguito sul sistema GeneXpert[®] Dx è un test diagnostico qualitativo *in vitro* previsto per il rilevamento rapido dello *Staphylococcus aureus* (SA) e dello *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) dai tamponi nasali dei pazienti a rischio di colonizzazione nasale. Il test utilizza la reazione a catena della polimerasi (PCR), automatica e in tempo reale, per il rilevamento del DNA dell'MRSA/SA. Il saggio Xpert SA Nasal Complete è previsto come ausilio nella prevenzione e nel controllo delle infezioni da MRSA/SA in ambito sanitario. Il saggio Xpert SA Nasal Complete non è previsto per la diagnosi, la guida o il monitoraggio del trattamento di infezioni da MRSA/SA, né tantomeno è utilizzabile per ottenere indicazioni in merito alla sensibilità alla meticillina. Un risultato negativo non preclude la colonizzazione nasale da MRSA/SA. Sono necessarie colture concomitanti mirate al recupero degli organismi per la tipizzazione epidemiologica o per ulteriori test di sensibilità.

4. Riepilogo e spiegazione

Lo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) è un patogeno umano ben documentato in grado di causare infezioni sia a livello comunitario che ospedaliero. La gravità delle infezioni può spaziare da semplici lesioni della pelle a patologie potenzialmente letali, tra cui endocardite, sepsi e osteomielite. *S. aureus* continua ad essere una delle principali cause di morbilità e mortalità in una vasta gamma di istituzioni sanitarie, ivi compresi gli ospedali ed i centri di lunga degenza. I portatori nasali di *S. aureus* sono a maggiore rischio di infezioni nosocomiali associate a questo organismo; nel complesso oltre l'80% delle infezioni ospedaliere da *S. aureus* possono essere ricondotte a fattori endogeni.¹ Più specificamente, dal 20% al 30% delle infezioni nel sito chirurgico sono causate da *S. aureus* e più della metà di esse è riconducibile alla flora endogena.² Le infezioni da *S. aureus* sono generalmente acute e suscitano una risposta infiammatoria aggressiva. Se non trattata, l'infezione può estendersi ai tessuti circostanti o al flusso sanguigno, diffondendosi conseguentemente a diversi organi. Tra le infezioni più serie provocate da *S. aureus* si annoverano la batteriemia, la polmonite, l'osteomielite, l'endocardite acuta, la sindrome da shock tossico, la miocardite, la pericardite, la meningite, la corioamnionite, la sindrome combustiforme, nonché gli ascessi dei muscoli, del tratto urogenitale, del sistema nervoso centrale e di vari organi intra-addominali.³

Nei primi anni cinquanta, l'acquisizione e la diffusione dei plasmidi che codificano la beta-lattamasi ostacolarono l'efficacia della penicillina nel trattamento delle infezioni da *S. aureus* (SA). Nel 1959 fu introdotta nell'uso clinico la meticillina, un tipo di penicillina semi-sintetica. Intorno al 1960, tuttavia, furono identificati ceppi di *S. aureus* resistenti alla meticillina (MRSA). Si stabilì che tale resistenza era la conseguenza dell'acquisizione, da parte dello *S. aureus*, del gene *mecA* della meticillino-resistenza. Oggi, negli USA, l'MRSA è responsabile di circa il 25% delle infezioni correlate all'assistenza sanitaria e le segnalazioni di infezioni da MRSA in ambiente comunitario stanno aumentando, con un conseguente significativo incremento della morbilità e della mortalità. Sono stati segnalati tassi di mortalità, rispettivamente, del 33% e del 16% per batteriemie da MRSA e da *S. aureus* meticillino-sensibile. Forte è, inoltre, la preoccupazione per l'aumento dei costi causati dalle infezioni da MRSA. Nel tentativo di limitare la diffusione di queste infezioni, si stanno sviluppando politiche e strategie di controllo da implementarsi in ambiente sanitario. Il controllo dell'MRSA è uno dei principali obiettivi della maggior parte dei programmi di monitoraggio delle infezioni correlate all'assistenza sanitaria.⁴⁻⁸ Attualmente, il metodo standard per il rilevamento di MRSA e SA è la coltura, che risulta però laborioso e può richiedere diversi giorni per un risultato definitivo. Dai risultati di un recente studio clinico multicentrico ben controllato è emerso che una rapida identificazione dei portatori nasali dello *S. aureus* attraverso la PCR in tempo reale, seguita da un'immediata implementazione delle procedure di decolonizzazione del naso e dei siti extra-nasali, può ridurre di quasi il 60% il numero delle infezioni ospedaliere del sito chirurgico causate da *S. aureus*.¹

5. Principio della procedura

Il sistema GeneXpert Dx automatizza e integra la purificazione dei campioni, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi, usando i saggi di PCR in tempo reale e RT-PCR (reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione). Il sistema è composto da uno strumento, un personal computer e un software precaricato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. Il sistema richiede l'impiego delle cartucce monouso contenenti i reagenti della PCR, dentro le quali si svolge l'omonimo processo (reazione a catena della polimerasi). Essendo le cartucce chiuse, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa del sistema, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

Il saggio Xpert SA Nasal Complete comprende i reagenti per il rilevamento dell'MRSA e dell'SA. Nel kit sono anche inclusi un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC). L'SPC viene utilizzato per verificare che i batteri bersaglio siano stati trattati in modo adeguato e monitorare la presenza di sostanze inibitrici nella reazione PCR. Il PCC verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento delle provette della PCR nelle cartucce, l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti.

Il saggio Cepheid Xpert SA Nasal Complete è un test diagnostico automatico rapido per il rilevamento qualitativo delle sequenze proprietarie del gene della proteina A stafilococcica (*spa*), del gene della resistenza alla meticillina (*mecA*) e del cromosoma *mec* della cassetta stafilococcica (*SCCmec*) inserito nel sito cromosomico *attB* dell'SA, da campioni di analisi prelevati dalle narici di pazienti a rischio di colonizzazione nasale.

6. Reagenti e strumenti

6.1 Materiale fornito



Il kit del saggio Xpert SA Nasal Complete contiene una quantità di reagenti sufficiente per il trattamento di 120 campioni di analisi o campioni di controllo qualità. Il contenuto del kit è il seguente.

Cartucce del saggio Xpert SA Nasal Complete con annesse provette di reazione	120
• Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate)	1 per cartuccia
• Reagente 1	3,0 mL per cartuccia
• Reagente 2 (idrossido di sodio)	3,0 mL per cartuccia
Sacca di reagente di eluizione del saggio Xpert SA Nasal Complete	1
• Reagente di eluizione (Guanidina tiocianato)	125 x 2,0 mL per flaconcino
CD	1 per kit
• File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)	
• Istruzioni per l'importazione dei file ADF all'interno del software GeneXpert	
• Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo)	

Nota

Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nei siti www.cephheid.com o www.cephheidinternational.com sotto la scheda **ASSISTENZA (SUPPORT)**.

Nota

L'albumina di siero bovino (BSA) presente nelle microsfere di questo prodotto è stata prodotta esclusivamente da plasma bovino di origine statunitense. Gli animali non sono stati nutriti con proteine di ruminanti o altre proteine animali; gli animali hanno superato i test ante e post mortem. Durante la lavorazione, il materiale non è stato miscelato con altro materiale animale.

6.2 Materiali necessari ma non forniti

- Sistema GeneXpert Dx (il numero di catalogo varia a seconda della configurazione): Strumento GeneXpert, computer con software proprietario GeneXpert versione 2.1 o successiva, lettore manuale per codici a barre e Manuale dell'operatore.
- Stampante (se necessario l'uso di una stampante, contattare Assistenza Tecnica di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata).
- Miscelatore vortex

- Tampone per il trasferimento dei campioni di analisi, come il tampone presente nel Cepheid Sample Collection Device 900-0370 (tampone doppio in mezzo di trasporto liquido Stuart) e nei Copan Dual Swab and Transport Systems (sistemi a tampone doppio e di trasporto Copan) (139C LQ STUART o 138C LQ AMIES)
- Pipette di trasferimento monouso (VWR 14670-331, Samco 2S-PL-232-1S) o equivalenti
- Garza (VWR 82030-638) o equivalente

6.3 Materiali disponibili non in dotazione

KWIK-STIKs™ di Microbiologics con numero di catalogo 0158MRSA e 0360MSSA come controlli positivi esterni e con numero di catalogo 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* meticillino-sensibile) come controllo negativo esterno.

7. Avvertenze e precauzioni



- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard. Le linee guida per la manipolazione dei campioni di analisi sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁹, e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).¹⁰
- In una coltura mista contenente MRSA/SA e altri organismi (es. bacilli Gram-negativi, lievito), i risultati possono essere falsi negativi o variabili a seconda della concentrazione di MRSA/SA presente, soprattutto se la concentrazione di MRSA/SA è prossima al limite di rilevamento (LoD) del saggio.
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di appartenenza.
- Il saggio Xpert SA Nasal Complete è in grado di rilevare la presenza di DNA di MRSA e/o SA da organismi non vitali. Le probabilità che questo si verifichi aumentano nei pazienti sottoposti a terapia antibiotica.
- Il saggio Xpert SA Nasal Complete non fornisce risultati sulla sensibilità antimicrobica. Colture e test di sensibilità richiedono infatti tempi di esecuzione più lunghi.
- Non sostituire i reagenti del saggio Xpert SA Nasal Complete con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia del saggio Xpert SA Nasal Complete se non per l'aggiunta di campioni e reagenti.
- Non utilizzare una cartuccia dopo averla fatta cadere o dopo averla agitata in seguito all'aggiunta di campioni e reagenti.
- Non aprire la confezione delle cartucce fino al momento in cui si dovrà eseguire il test.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione è danneggiata.



- Utilizzare una cartuccia monouso del saggio Xpert SA Nasal Complete per l'esecuzione di ogni test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi adottando le precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali della propria struttura sanitaria per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento sarà necessario attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione mondiale della sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.

8. Pericoli chimici^{11,12}

- Pittogramma di pericolo UN GHS:
- Avvertenza: ATTENZIONE
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Nocivo se ingerito.
 - Provoca irritazione cutanea.
 - Provoca grave irritazione oculare.

- **Frase di prudenza UN GHS**

- Prevenzione
 - Lavare accuratamente dopo l'uso.
 - Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso.
 - Non disperdere nell'ambiente.
 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
- Risposta
 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.
 - Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
 - Trattamento specifico (vedere le informazioni supplementari di pronto soccorso).
 - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.
 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
 - Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico.
 - IN CASO DI INGESTIONE: accompagnata da malessere: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
 - Sciacquare la bocca.

9. Conservazione e manipolazione



- Le cartucce e i reagenti del saggio Xpert SA Nasal Complete vanno conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.
- Non utilizzare i reagenti o le cartucce oltre la data di scadenza.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Non utilizzare i reagenti se appaiono torbidi o scoloriti.
- Utilizzare le cartucce entro 2 settimane dall'apertura dell'involucro protettivo.

10. Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi



1. Attenersi alle linee guida del proprio presidio per la raccolta dei campioni di tamponi nasali per il test MRSA/SA. Per informazioni sui tamponi, consultare Sezione 6.2, Materiali necessari ma non forniti. Se utilizzati con i dispositivi Cepheid Sample Collection Device o Copan Liquid Stuart Collection Device, i tamponi possono essere usati asciutti oppure dopo essere stati previamente inumiditi con soluzione salina sterile. Se utilizzati con il Copan Liquid Amies Collection Device, i tamponi devono essere previamente inumiditi con la spugna imbevuta di mezzo di trasporto.



2. Riporre il tampone del campione di analisi nella provetta di trasporto in plastica (si consiglia di utilizzare mezzo di trasporto liquido Stuart, Cepheid Collection Device o Copan) e inviare il tutto all'area di test GeneXpert. Conservare il rimanente tampone non testato in un mezzo di trasporto adeguato per la coltura microbiologica, a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C, ed eseguire la coltura entro 4 giorni.



3. Conservare i campioni di analisi a temperatura ambiente (15 – 28 °C) qualora il trattamento sia previsto entro 24 ore o tra 2 °C e 8 °C in caso contrario. Se conservati tra 2 °C e 8 °C, i campioni di analisi dei tamponi sono stabili fino a 5 giorni.

11. Procedura

Gli operatori dovranno ricevere una formazione adeguata sul funzionamento di base dello strumento GeneXpert e sui test Xpert, in conformità con i protocolli previsti dal proprio presidio.

11.1 Preparazione della cartuccia

Importante Iniziare il test entro 15 minuti dall'introduzione del campione nella cartuccia.

Per inserire il campione nella cartuccia, procedere nel modo seguente.

1. Estrarre la cartuccia e il reagente dalla confezione.
2. Rimuovere il tampone dal contenitore di trasporto.

Nota Maneggiare il tampone con una garza, per ridurre al minimo il rischio di contaminazione.

3. Inserire il tampone nella provetta contenente il reagente di eluizione e spezzare il tampone.
4. Chiudere il coperchio del flacone del reagente di eluizione e miscelare in vortex per 10 secondi ad alta velocità.
5. Aprire il coperchio della cartuccia. Usando una pipetta di trasferimento, trasferire l'intero contenuto del reagente di eluizione nella camera del campione della cartuccia del saggio Xpert SA Nasal Complete. Vedere la Figura 1.
6. Chiudere il coperchio della cartuccia.

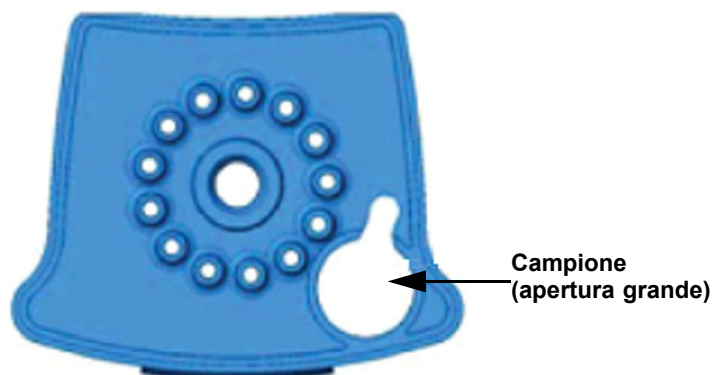


Figura 1. Cartuccia del saggio Xpert SA Nasal Complete (vista dall'alto)

11.2 Avvio del test

Importante Prima di iniziare il test, verificare che il file di definizione del saggio Xpert SA Nasal Complete sia stato importato nel software. Questa sezione elenca le fasi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

1. Accendere lo strumento GeneXpert Dx e poi il computer. Il software GeneXpert si avvia automaticamente.
2. Effettuare l'accesso al software del sistema GeneXpert Dx inserendo il nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema GeneXpert Dx, fare clic su **Crea analisi (Create Test)**. Verrà visualizzata la finestra Crea analisi (Create Test).
4. Eseguire la scansione o digitare l'ID paziente (Patient ID) (opzionale). Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene riportato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)**.
5. Nella casella ID campione (Sample ID), eseguire la scansione o digitare l'ID del campione. Accertarsi di aver digitato l'ID del campione corretto (l'ID del campione è associato al risultato del test ed è mostrato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e in tutti i rapporti). Verrà visualizzata la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre della cartuccia (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia del saggio Xpert SA Nasal Complete. Verrà visualizzata la finestra **Crea analisi (Create Test)**. Usando le informazioni contenute nel codice a barre, il software riempie automaticamente le caselle corrispondenti ai seguenti campi: Seleziona saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge SN) e Data di scadenza (Expiration Date).
7. Fare clic su **Avvia test (Start Test)**. Immettere la password, se richiesto.
8. Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
9. Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia si spegne.
10. Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo, quindi rimuovere la cartuccia.
11. Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori per rifiuti biologici attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

11.3 Visualizzazione e stampa dei risultati

Per istruzioni dettagliate sulla visualizzazione e la stampa dei risultati, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

12. Controllo qualità

CONTROL

Ciascun test comprende un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) (nella schermata di visualizzazione dei risultati, accessibile a livello di amministratore) e un controllo per la verifica della sonda (PCC).

Controllo per il trattamento dei campioni (SPC) — Assicura che il campione sia stato trattato correttamente. Il controllo SPC contiene spore di *Bacillus globigii*, presenti in ogni cartuccia sotto forma di pellet di spore essiccate, per verificare il corretto trattamento del campione del saggio Xpert SA Nasal Complete. Il controllo SPC accerta l'avvenuta lisi dello *S. aureus*, qualora gli organismi siano presenti, e verifica che il trattamento dei campioni di analisi sia adeguato. Questo controllo garantisce inoltre che le condizioni della reazione PCR (temperatura e tempo) siano adeguate alla reazione di amplificazione e che i reagenti PCR siano funzionali, oltre a rilevare l'inibizione del saggio di PCR in tempo reale associata ai campioni di analisi. L'SPC deve essere positivo in un campione negativo e può essere negativo o positivo in un campione positivo. L'SPC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.

Controllo per la verifica della sonda (PCC) — Prima che inizi la reazione PCR, il sistema GeneXpert Dx misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsfele, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti. La verifica della sonda si considera riuscita qualora siano soddisfatti i criteri di accettazione assegnati.

Controlli esterni — I controlli esterni possono essere usati in conformità con le prescrizioni degli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

Quando si utilizzano i controlli KWIK-STIK (vedere la sezione 6.3), attenersi alla procedura Microbiologics per i controlli esterni descritta di seguito.

1. Strappare il sacchetto in corrispondenza della tacca ed estrarre il KWIK-STIK.
2. Premere il fondo della fiala all'interno del tappo per fare fuoriuscire il fluido idratante.
3. Tenere la fiala verticalmente e picchiare per facilitare il passaggio del fluido attraverso il condotto fino alla base dell'unità contenente il pellet.
4. Per facilitare lo scioglimento del pellet di cellule liofilizzate, frantumare il pellet e premere leggermente la camera inferiore.
5. Rimuovere il cappuccio dal KWIK-STIK per esporre il tampone, quindi inserire il tampone nella provetta contenente il reagente di eluizione (tappo a vite). Il tampone KWIK-STIK è pronto per il test del saggio Xpert SA Nasal Complete.
6. Se il controllo di qualità esterno non sortisce l'esito desiderato, ripetere il test di controllo esterno e/o contattare Cepheid per ricevere assistenza.

13. Interpretazione dei risultati

I risultati vengono interpolati automaticamente dal sistema GeneXpert Dx, dai segnali fluorescenti misurati e dagli algoritmi di calcolo incorporati e vengono visualizzati nella finestra **Visualizza risultati (View Results)**. I risultati possibili sono:

Risultato	Interpretazione
MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE); SA POSITIVO (SA POSITIVE) (Figura 2)	DNA bersaglio per MRSA rilevato; DNA bersaglio per SA rilevato. <ul style="list-style-type: none"> Tutti i bersagli per MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>) presentano un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore di soglia. SPC – NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato, dato che l'amplificazione dell'MRSA può competere con questo controllo. Verifica della sonda – AMMESSO: tutti i risultati della verifica della sonda sono validi. Un risultato positivo del test non indica necessariamente la presenza di organismi vitali ma può comunque essere indicativo della presenza di MRSA o SA.
MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA POSITIVO (SA POSITIVE) (Figura 3)	DNA bersaglio per MRSA non rilevato; DNA bersaglio per SA rilevato. <ul style="list-style-type: none"> Il bersaglio per SA (<i>spa</i>) presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore di soglia. Non è stata rilevata la presenza di DNA bersaglio per <i>SCCmec</i> e il DNA bersaglio per <i>mecA</i> può essere stato rilevato o meno. Il bersaglio per SA (<i>spa</i>) presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore di soglia. Non è stata rilevata la presenza di DNA bersaglio per <i>mecA</i> e il DNA bersaglio per <i>SCCmec</i> è stato rilevato (variante con cassetta vuota). SPC – NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato, dato che l'amplificazione dell'SA può competere con questo controllo. Verifica della sonda – AMMESSO: tutti i risultati della verifica della sonda sono validi. Il risultato di test MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE) e SA POSITIVO (SA POSITIVE) non preclude la colonizzazione nasale da MRSA.
MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA NEGATIVO (SA NEGATIVE) (Figura 4)	DNA bersaglio per SA non rilevato. <ul style="list-style-type: none"> Il DNA bersaglio per SA (<i>spa</i>) non è stato rilevato. Il DNA bersaglio per <i>mecA</i> può essere stato rilevato o meno; analogamente può essere stato rilevato o meno il DNA bersaglio per <i>SCCmec</i>. SPC – AMMESSO; il controllo SPC presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore di soglia. Verifica della sonda – AMMESSO: tutti i risultati della verifica della sonda sono validi. Un risultato del test MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE) e SA NEGATIVO (SA NEGATIVE) non preclude la colonizzazione nasale da MRSA o SA. Un falso negativo per MRSA (un risultato MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA POSITIVO (SA POSITIVE) anziché MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE); SA POSITIVO (SA POSITIVE)) potrebbe presentarsi qualora siano presenti nel campione sia organismi MRSA che SA con un rapporto MRSA:SA di $1:1 \times 10^3$ o superiore.
NON VALIDO (INVALID) (Figura 5)	La presenza o l'assenza di DNA bersaglio per MRSA e SA non può essere determinata. Ripetere il test attenendosi alle istruzioni della seguente sezione. <ul style="list-style-type: none"> SPC – RESPINTO; il risultato del bersaglio per SPC è negativo, il Ct per SPC non rientra nel range di validità e l'endpoint è al di sotto del valore di soglia. Verifica della sonda – AMMESSO: tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Risultato	Interpretazione
ERRORE (ERROR)	<p>La presenza o l'assenza di DNA bersaglio per MRSA e SA non può essere determinata. Ripetere il test attenendosi alle istruzioni della seguente sezione.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bersagli per MRSA e SA – NESSUN RISULTATO • SPC – NESSUN RISULTATO • Verifica della sonda – RESPINTA*; uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi. <p>*Se la verifica della sonda ha avuto esito positivo, l'errore è probabilmente attribuibile alla pressione massima, superiore al range accettabile.</p>
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	<p>La presenza o l'assenza di DNA bersaglio per MRSA e SA non può essere determinata. Ripetere il test attenendosi alle istruzioni della seguente sezione.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bersagli per MRSA e SA – NESSUN RISULTATO • SPC – NESSUN RISULTATO • Verifica della sonda – Non applicabile

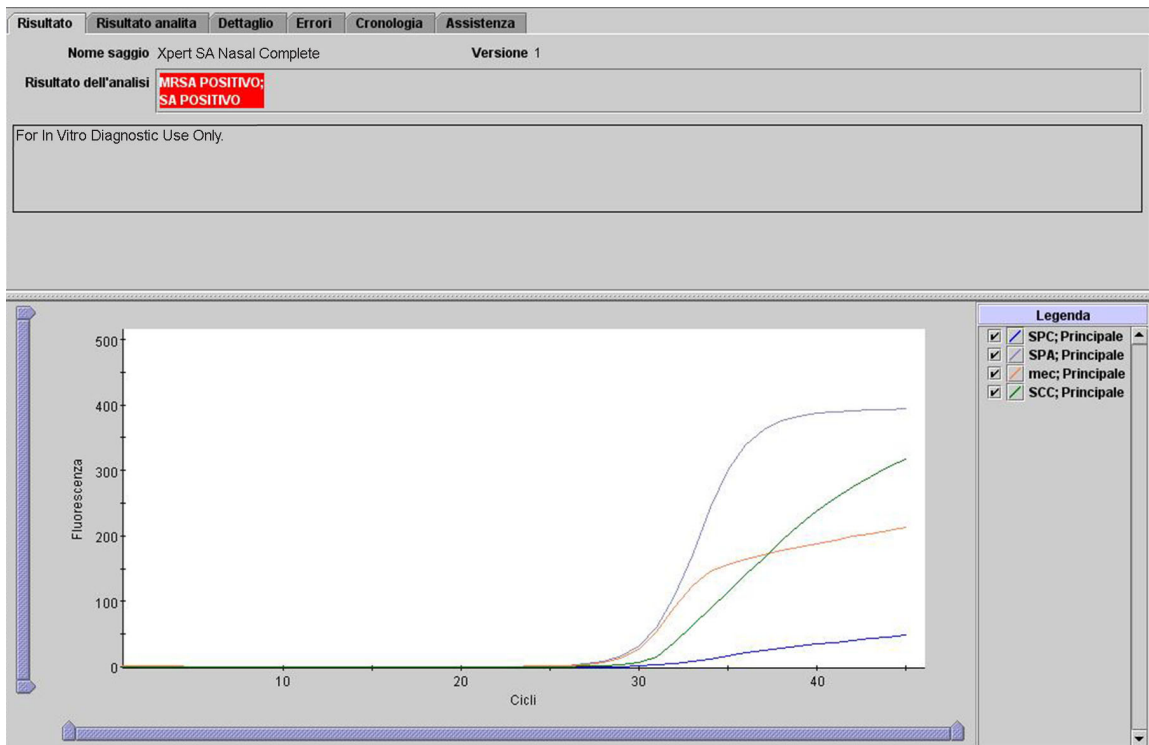


Figura 2. Esempio di risultato MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE) e SA POSITIVO (SA POSITIVE)

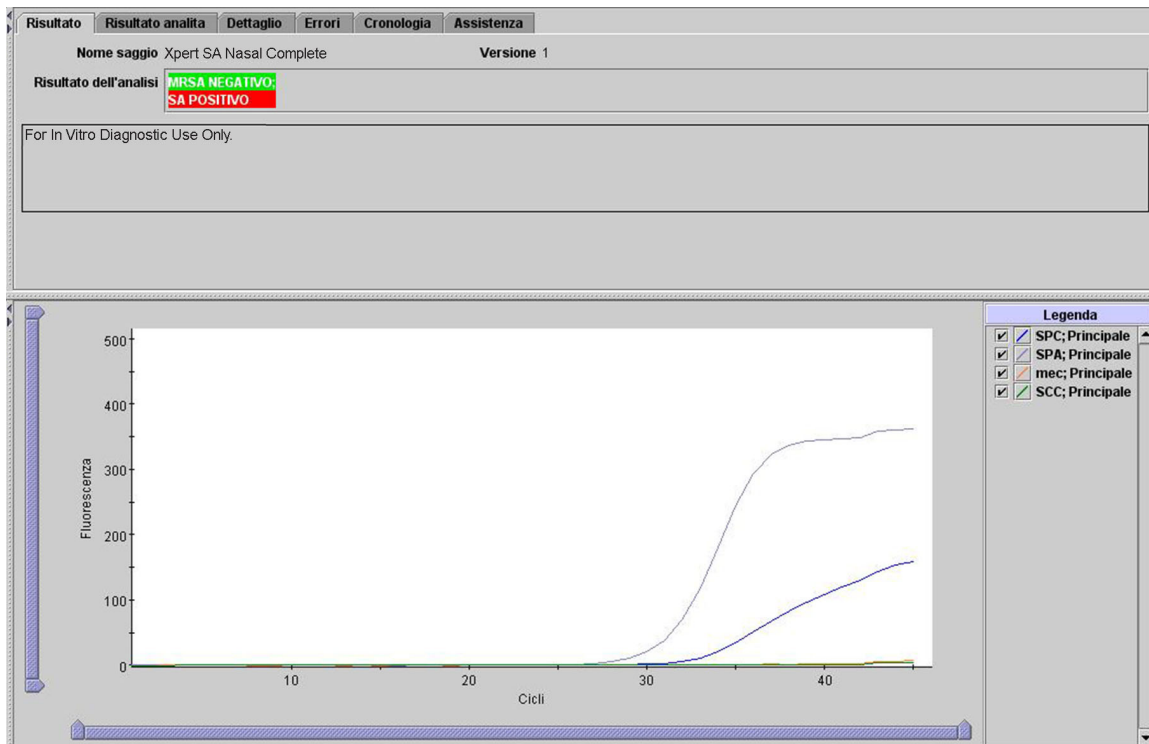


Figura 3. Esempio di risultato MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE) e SA POSITIVO (SA POSITIVE)

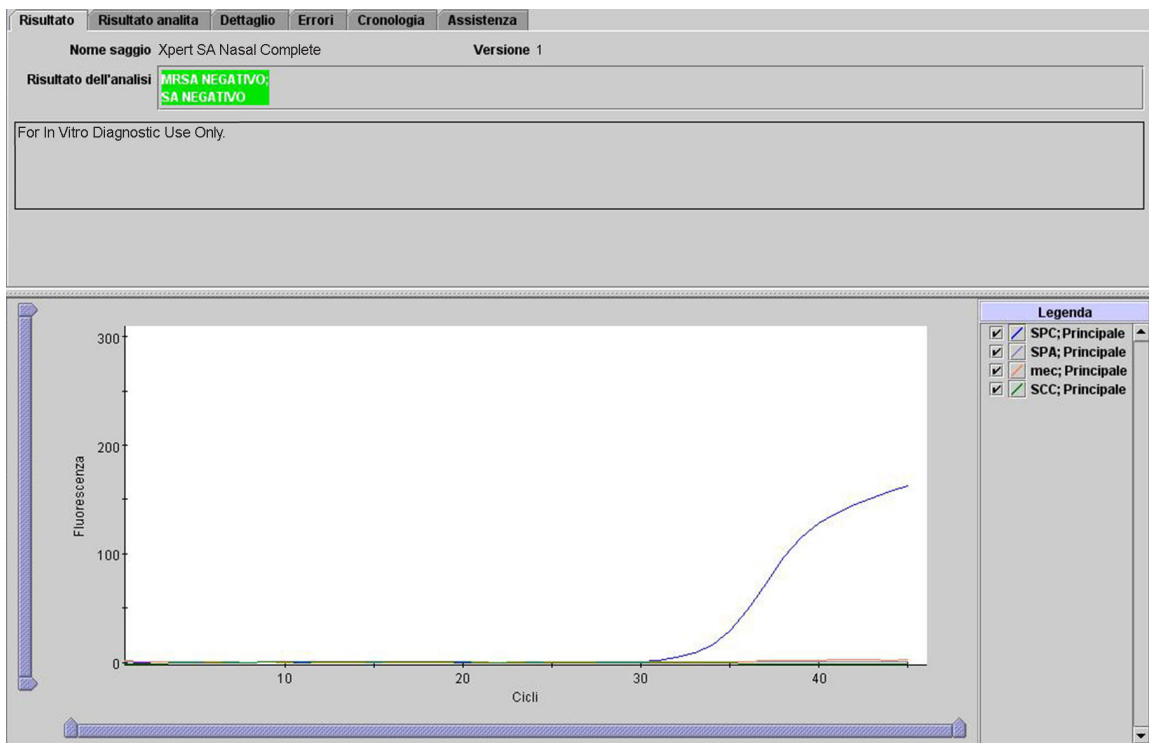


Figura 4. Esempio di risultato MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE) e SA NEGATIVO (SA NEGATIVE)

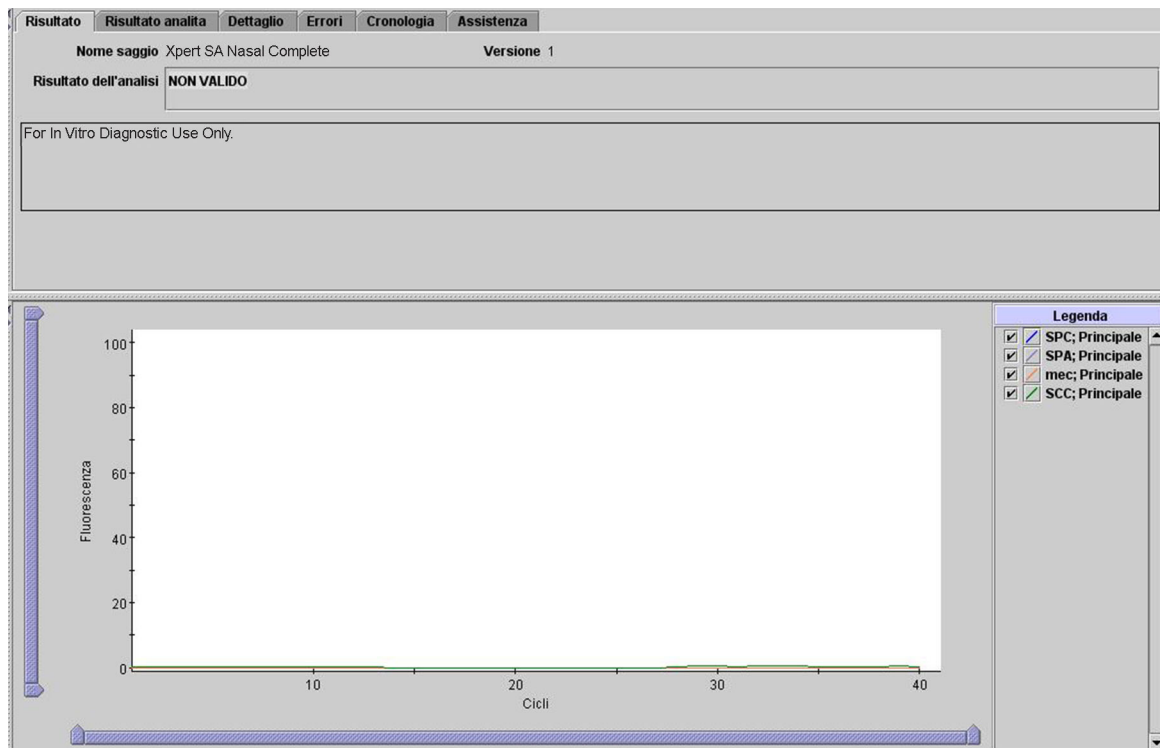


Figura 5. Esempio di risultato NON VALIDO (INVALID)

14. Motivi per ripetere il saggio

Qualora dovesse presentarsi uno dei risultati di test elencati di seguito, ripetere il test attenendosi alla procedura descritta in precedenza utilizzando un nuovo campione, una nuova cartuccia (non riutilizzare le cartucce già usate) e un nuovo reagente.

Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica che il controllo SPC non è valido. Il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.

Un risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il saggio è stato interrotto. Le cause possibili comprendono: riempimento inadeguato della provetta di reazione, individuazione di un problema a livello di integrità della sonda del reagente o superamento dei limiti massimi di pressione.

NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. L'operatore, ad esempio, ha interrotto l'esecuzione di un test oppure si è verificata un'interruzione di corrente.

15. Limitazioni

- Le prestazioni del saggio Xpert SA Nasal Complete sono state convalidate usando unicamente le procedure specificate nel presente foglietto illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni dell'analisi.
- I risultati del saggio Xpert SA Nasal Complete devono essere interpretati insieme ad altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico e utilizzati come ausilio nei protocolli di controllo delle infezioni correlate all'assistenza sanitaria, allo scopo di identificare i pazienti che necessitano di precauzioni particolari. I risultati non devono essere utilizzati per la determinazione o il monitoraggio del trattamento delle infezioni da MRSA o SA.
- Si possono ottenere risultati del test erronei come conseguenza di una raccolta dei campioni di analisi inadeguata, della mancata osservanza delle procedure consigliate per la raccolta, la manipolazione e la conservazione dei campioni, di errori tecnici, di commistione dei campioni o a causa di una presenza di organismi nel campione di analisi troppo esigua per essere rilevata dal test. La rigorosa osservanza delle istruzioni del presente foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erronei.
- Un risultato positivo del test non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Può comunque essere indicativo della presenza di MRSA o SA.

- Un risultato positivo del saggio Xpert SA Nasal Complete non indica necessariamente la non riuscita dell'intervento di eradicazione, data la possibile persistenza di DNA non vitale. Un risultato negativo successivo a un precedente risultato positivo del test potrebbe indicare o meno la riuscita dell'intervento di eradicazione.
- Le caratteristiche prestazionali del test non sono state stabilite per pazienti di età ≤ 21 anni.
- Poiché il rilevamento di MRSA e SA dipende dal numero di organismi presenti nel campione, l'affidabilità dei risultati dipende da un'adeguata raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni di analisi.
- Mutazioni o polimorfismi nelle regioni leganti il primer o la sonda possono compromettere il rilevamento di varianti nuove o sconosciute di MRSA, con conseguenti risultati falsi negativi.
- Nei campioni contenenti sia MRSA che SA, il saggio Xpert SA Nasal Complete potrebbe non rilevare gli organismi MRSA. Nello studio clinico principale è stato incluso un campione con infezione mista da MRSA/SA documentata; il saggio Xpert SA Nasal Complete ha identificato con successo il campione come positivo sia per MRSA che per SA.
- Nelle colture miste, il LoD (limite di rilevamento) analitico dell'MRSA è variabile quando sono presenti concentrazioni molto elevate di SA. È stata osservata competizione da parte dell'SA con rapporti MRSA:SA pari a $1:1 \times 10^6$ in 7 su 8 tipi di SCCmec testati. Nel caso del tipo VIII di SCCmec, è stata osservata competizione da parte dell'SA con rapporti MRSA:SA pari a $1:1 \times 10^3$.
- È stata osservata inibizione del saggio SA Nasal Complete, con conseguenti risultati di test non validi, in presenza di steroidi nasali inalati con gli spray Flonase e Nasonex in campioni negativi per SA, a concentrazioni superiori, rispettivamente, al 5% v/v e al 10% v/v.
- È stata osservata inibizione del saggio SA Nasal Complete, con conseguenti risultati di test falsi negativi, in presenza di steroidi nasali inalati con gli spray Flonase e Nasonex in campioni positivi per MRSA, a concentrazioni superiori, rispettivamente, all'1% v/v e al 5% v/v.
- Il saggio Xpert SA Nasal Complete può generare risultati falsi positivi per MRSA durante l'analisi di campioni con infezioni nasali miste contenenti sia *Staphylococcus* meticillino-resistente coagulasi-negativo che SA con cassetta vuota.
- Il saggio Xpert SA Nasal Complete può generare risultati falsi negativi per MRSA durante l'analisi di *S. aureus* con resistenza borderline all'oxacillina (BORSA). Il meccanismo della resistenza all'oxacillina nei ceppi BORSA è dovuto a un'aumentata produzione di β -lattamasi e non al gene *mecA*. Agli organismi BORSA con oxacillina MIC (concentrazione minima inibente) pari a 4 – 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ viene attribuita una resistenza borderline, ma potrebbero essere segnalati come negativi per MRSA dal saggio Xpert SA Nasal Complete. I ceppi BORSA sono rari negli USA.
- Il saggio Xpert SA Nasal Complete può generare risultati falsi negativi per MRSA durante l'analisi di *S. aureus* modificato (MOD-SA). Il meccanismo della resistenza all'oxacillina nei ceppi MOD-SA è dovuto alle variazioni di affinità delle proteine leganti la penicillina per l'oxacillina e non al gene *mecA*. Agli organismi MOD-SA con oxacillina MIC pari a 4 – 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ viene attribuita una resistenza borderline, ma potrebbero essere segnalati come negativi per MRSA dal saggio Xpert SA Nasal Complete. I ceppi MOD-SA sono rari negli USA.
- Nei campioni di analisi contenenti sangue può verificarsi un'associazione con risultati falsi positivi.
- Come per tutti i test diagnostici *in vitro* basati sulla PCR, possono essere rilevati livelli estremamente bassi di bersaglio, inferiori al LoD (limite di rilevamento), ma i risultati potrebbero non essere riproducibili. (Vedere la Sezione 19., Riproducibilità)
- Il risultato del saggio Xpert SA Nasal Complete può a volte essere **NON VALIDO (INVALID)** a causa del mancato superamento del controllo SPC, **ERRORE (ERROR)** o **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)**, e richiedere la ripetizione del test con conseguenti ritardi nell'ottenimento dei risultati finali.
- Come per tutti i test diagnostici *in vitro*, i valori predittivi positivi e negativi dipendono fortemente dalla prevalenza. Le prestazioni del saggio Xpert SA Nasal Complete possono variare a seconda della prevalenza e della popolazione testata.

16. Valori attesi

Nello studio clinico su Xpert SA Nasal Complete sono stati inclusi un totale di 2487 campioni di analisi nasali provenienti da 8 diversi presidi sul territorio statunitense. Il numero e la percentuale di casi positivi sulla base del metodo della coltura di riferimento, calcolati per fasce di età, sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. Prevalenza osservata di MRSA e SA per coltura

Fascia di età	Nr. totale	MRSA per coltura		SA per coltura	
		Nr. positivi	Prevalenza osservata	Nr. positivi	Prevalenza osservata
22 – 30 anni	325	10	3,1%	71	21,8%
31 – 40 anni	359	17	4,7%	84	23,4%
41 – 50 anni	459	28	6,1%	118	25,7%
51 – 60 anni	487	36	7,4%	141	29,0%
61 – 70 anni	315	25	7,9%	75	23,8%
Età > 70 anni	542	57	10,5%	138	25,5%

17. Caratteristiche prestazionali

17.1 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del saggio Xpert SA Nasal Complete sono state determinate nel corso di uno studio analitico prospettico multi-centrico, articolato su otto presidi statunitensi, confrontando il saggio Xpert SA Nasal Complete con la coltura di riferimento.

Da ogni soggetto sono stati raccolti due tamponi. Un tampone è stato testato con il saggio Xpert SA Nasal Complete presso il centro di raccolta, mentre l'altro è stato inviato al laboratorio centrale per essere testato con la coltura di riferimento.

Presso il laboratorio centrale, il campione di analisi è stato arricchito durante la notte con brodo di soia triptico con NaCl al 6,5%. Il brodo di soia triptico è stato poi strisciato su una piastra di agar contenente sangue di pecora. Per la conferma di colonie positive presuntive sono stati utilizzati catalasi, coagulasi in provetta e colorazione di Gram. La resistenza all'oxacillina mediata dal gene *MecA* è stata testata con il test di diffusione su disco, usando un dischetto di cefoxitina da 30 µg e un cutoff di ≤ 21 mm (R), ≥ 22 mm (S).

Le prestazioni del saggio Xpert SA Nasal Complete sono state calcolate in relazione ai risultati della coltura di riferimento.

17.2 Risultati complessivi

Un totale di 2487 campioni di analisi è stato testato per MRSA e SA usando il saggio Xpert SA Nasal Complete e una coltura di agar arricchita di sangue.

I pazienti che avevano assunto antibiotici nei 7 giorni precedenti la raccolta dei campioni di analisi sono stati dichiarati non idonei per il test. Tra i 2487 casi del set di dati idonei, per 141 è stato segnalato l'uso di antibiotici tra il 7° e il 21° giorno precedenti la raccolta dei campioni, mentre nessun antibiotico è stato assunto da 2323 soggetti; in 23 casi non è stato possibile accertare l'assunzione o meno di antibiotici. L'assunzione di antibiotici non ha tuttavia comportato differenze statisticamente significative nel tasso di positività delle colture o nelle prestazioni del saggio Xpert SA Nasal Complete.

Una delle colture positive per MRSA presentava infezioni miste di MRSA e *Staphylococcus aureus* meticillino-sensibile. Il saggio Xpert SA Nasal Complete ha correttamente identificato questo campione di analisi come positivo per MRSA/SA.

Le prestazioni del saggio Xpert SA Nasal Complete sono riepilogate nella Tabella 2.

Tabella 2. Confronto tra le prestazioni del saggio SA Nasal Complete e la coltura di riferimento

		Coltura di riferimento			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/Nessuna colonizz.	Totale
Xpert	MRSA+	159	24	25	208
	SA+/MRSA-	9	393	152	554
	SA-	5	37	1683	1725
	Totale	173	454	1860	2487
		MRSA:			
		Sensibilità:	91,9% (159/173) (IC al 95%: 86,8-95,5%)		
		Specificità:	97,9% (2265/2314) (IC al 95%: 97,2-98,4%)		
		PPV:	76,4% (159/208) (IC al 95%: 70,1-82,0%)		
		NPV:	99,4% (2265/2279) (IC al 95%: 99,0-99,7%)		
		SA:			
		Sensibilità:	93,3% (585/627) (IC al 95%: 91,1-95,1%)		
		Specificità:	90,5% (1683/1860) (IC al 95%: 89,1-91,8%)		
		PPV:	76,8% (585/762) (IC al 95%: 73,6-79,7%)		
		NPV:	97,6% (1683/1725) (IC al 95%: 96,7-98,2%)		

Il 96,5% (2487/2578) dei test eseguiti sui campioni di analisi idonei con il saggio Xpert SA Nasal Complete è riuscito al primo tentativo. I restanti 91 test hanno dato risultati incerti al primo tentativo (31 **NON VALIDO (INVALID)**, 51 **ERRORE (ERROR)**, e 9 **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)**). La configurazione dello studio non consentiva la ripetizione dei test.

17.3 Varianti con cassetta vuota

Per poter identificare un isolato come positivo per MRSA con il saggio Xpert SA Nasal Complete, il test per *spa* deve essere positivo, così come il test per *mecA* e *SCCmec*. Un isolato positivo per *spa* e *SCCmec*, ma non per *mecA*, viene segnalato come SA in quanto meticillino-sensibile. Una situazione di questo tipo può verificarsi quando la porzione dell'elemento *SCCmec* portatore del gene *mecA* viene recisa, ma le estremità di questo elemento mobile rimangono al loro posto, dando luogo a un segnale *SCCmec* positivo. Questi isolati vengono a volte segnalati come “varianti con cassetta vuota” e non sono inconsueti negli ambienti clinici. Il significato di questi isolati sta nella loro capacità di confondere i saggi per MRSA che non prevedono il rilevamento diretto del gene *mecA*. Il saggio Xpert SA Nasal Complete è stato ideato per identificare queste varianti correttamente come SA.

Tra i campioni di analisi idonei inclusi nelle analisi dei dati presentate in questo rapporto, ben 14 isolati sono rientrati nel profilo “cassetta vuota” con conseguenti risultati di test positivi per *spa* e *SCCmec*, mentre non è stata rilevata alcuna positività per *mecA* (Ct = 0) come riportato nella Tabella 3. Tutti i 14 campioni di analisi sono stati confermati come isolati veri negativi per MRSA e veri positivi per SA in relazione alla coltura di riferimento.

Tabella 3. Confronto tra le prestazioni del saggio SA Nasal Complete e la coltura di riferimento — varianti con cassetta vuota

Nr. soggetto	Xpert Risultato	spa (Ct)	mecA (Ct)	SCCmec (Ct)	Coltura	Xpert vs. coltura	
						MRSA	SA
1	SA	34,2	0	36,2	SA	TN	TP
2	SA	32,4	0	34,3	SA	TN	TP
3	SA	24,6	0	26,3	SA	TN	TP
4	SA	26,9	0	29,0	SA	TN	TP
5	SA	29,1	0	31,1	SA	TN	TP
6	SA	24,4	0	26,8	SA	TN	TP
7	SA	31,8	0	33,6	SA	TN	FP
8	SA	32,3	0	34,7	SA	TN	TP
9	SA	28,5	0	31,1	SA	TN	TP
10	SA	25,8	0	27,5	SA	TN	TP
11	SA	17,4	0	19,7	SA	TN	TP
12	SA	17,4	0	18,9	SA	TN	TP
13	SA	26,9	0	29,7	SA	TN	TP
14	SA	22,6	0	24,6	SA	TN	TP

18. Prestazioni analitiche

18.1 Specificità analitica (esclusività)

Studio di reattività crociata

Centoquattordici (114) ceppi filogeneticamente correlati allo *Staphylococcus aureus*, o specie potenzialmente presenti nella flora nasofaringea, sono stati testati con il saggio Xpert SA Nasal Complete. Di questi, 103 provenivano dall'ATCC (American Type Culture Collection), 2 dalla CCUG (Culture Collection, Università di Göteborg, Svezia), 1 dalla DSM (Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen, Germania), 1 da Teruyo Ito, Università di Juntendo, Tokyo, Giappone e 7 dal Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA).

Gli organismi testati sono stati identificati come Gram-positivi (83), Gram-negativi (28) o lieviti (3). Il gruppo includeva stafilococchi meticillino-sensibili negativi alla coagulasi o MSCoNS (34) e stafilococchi meticillino-resistenti negativi alla coagulasi o MRCoNS (12). Gli organismi sono poi stati ulteriormente classificati come aerobici (106) o anaerobici (8).

Tre (3) replicati di ciascun isolato sono stati testati con concentrazioni tra 4,5 e $9,5 \times 10^8$ CFU/mL o 1,7 – 3,2 unità McFarland. In base alle condizioni di questo studio, tutti gli isolati sono stati segnalati come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA NEGATIVO (SA NEGATIVE)** dal saggio Xpert SA Nasal Complete. La specificità analitica del saggio Xpert SA Nasal Complete era del 100%. Questi risultati rivelano che un campione contenente specie diverse dallo *Staphylococcus aureus* ($>1 \times 10^8$ CFU/mL) non darà adito a risultati falsi positivi per MRSA/SA con il saggio Xpert SA Nasal Complete.

Valutazione dei ceppi BORSA

Sono stati testati sette (7) ceppi di *Staphylococcus aureus* ben caratterizzati con resistenza borderline all'oxacillina (BORSA), tra cui un'evidente "cassetta vuota" (vedere sopra). Lo *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente presenta resistenza a tutti i farmaci β -lattamici attraverso la proteina alternativa PBP2a legante la penicillina, codificata da *mecA*. I ceppi BORSA sono negativi per il gene *mecA*, ma presentano una concentrazione minima inibente l'oxacillina (MIC) tra ≥ 1 e ≤ 8 $\mu\text{g/mL}$. È molto importante distinguere tra MRSA e BORSA, in modo da poter implementare misure precauzionali di isolamento e trattamento adeguate per i pazienti infetti da ceppi dello *S. aureus* sensibili alla meticillina.

In base alle condizioni di questo studio, tutti e 7 gli isolati BORSA (compreso l'isolato con evidente "cassetta vuota") sono stati segnalati come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA POSITIVO (SA POSITIVE)** dal saggio Xpert SA Nasal Complete, sia a concentrazioni cellulari elevate che basse. Non sono stati segnalati segnali *mecA*. Questi risultati mostrano che un ceppo BORSA sarà identificato correttamente come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA POSITIVO (SA POSITIVE)**, senza generare risultati falsi positivi per MRSA con il saggio Xpert SA Nasal Complete.

18.2 Sensibilità analitica

Studi sul limite di rilevamento

Sono stati condotti studi clinici per determinare gli intervalli di confidenza al 95% per il limite di rilevamento analitico (LoD) delle cellule di *Staphylococcus aureus* meticillino-sensibile e di *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) diluite in una matrice nasale simulata. La matrice nasale consisteva in mucina e sangue in PBS (soluzione salina tamponata) con glicerolo al 15%. Il limite di rilevamento viene definito come il minor numero di unità formanti colonia (CFU) per campione che possono essere distinte in modo riproducibile dai campioni negativi, con un livello di confidenza del 95% o come le concentrazioni più basse con cui 19 replicati su 20 sono risultati positivi.

Per l'SA, replicati di 20 sono stati analizzati con varie concentrazioni per tre (3) diversi isolati. Erano rappresentati i tipi statunitensi USA900 e USA1200.

Per l'MRSA, replicati di 20 sono stati analizzati con varie concentrazioni per dieci (10) diversi isolati rappresentativi dei tipi I, II, III, IVa, IVd, V, VI, VII e VIII del gene *SCCmec*. Se caratterizzati mediante elettroforesi con gel in campo pulsato (PFGE), sono rappresentati il ceppo USA100, il più comune tra quelli acquisiti in ambiente sanitario, e il ceppo USA400, tra i più diffusi in ambiente comunitario. Nello studio sono stati inclusi isolati segnalati come contenenti sottopopolazioni eterogenee, in relazione alla propria resistenza fenotipica all'oxacillina.

Le stime e gli intervalli di confidenza sono stati determinati usando la regressione logistica con i dati (numero di risultati positivi per numero di replicati a ogni livello) nell'intera gamma di CFU/tampone testata. Gli intervalli di confidenza sono stati determinati usando le stime di probabilità massima dei parametri del modello logistico usando la matrice grande di varianza e covarianza dei campioni. Le stime del punto LoD e gli intervalli di confidenza al 95% superiore e inferiore per ciascun tipo *SCCmec* testato per SA e MRSA sono riepilogati nelle Tabella 4 e Tabella 5.

Tabella 4. Intervalli di confidenza al 95% per il LoD analitico — SA

ID ceppo SA	PFGE	Stima LoD (CFU/tampone)	IC 95% inferiore	IC 95% superiore
N7129	USA900	154	132	197
102-04	USA1200	128	109	177
29213	sconosciuto	94	76	138

Tabella 5. Intervalli di confidenza al 95% per il LoD analitico — MRSA

ID ceppo MRSA	Tipo di <i>SCCmec</i>	PFGE	Stima LoD (CFU/tampone)	IC 95% inferiore	IC 95% superiore
64/4176	I	USA500	79	64	119
N315	II	USA100	94	76	131
BK2464	II	USA100	143	116	212
11373	III	Sconosciuto	52	42	77
MW2	IVa	USA400	85	69	130
BK2529 ¹	IVd	USA500	256	216	334
ST59-MRSA-V	V	USA1000	127	105	170
HDE288 ¹	VI	USA800	97	78	141
JCSC6082	VII	Sconosciuto	214	182	276
WA MRSA-16	VIII	Sconosciuto	292	259	384

¹ Isolati eterogenei oxacillino-resistenti.

I risultati di questo studio indicano che il saggio Xpert SA Nasal Complete genererà risultati positivi per SA nel 95% dei casi con una confidenza del 95% per i tamponi nasali contenenti 175 CFU e risultati positivi per MRSA nel 95% dei casi con una confidenza del 95% per i tamponi nasali contenenti 300 CFU.

18.3 Reattività analitica (inclusività)

Duecentoquarantotto (248) ceppi di *Staphylococcus aureus* sono stati testati usando il saggio Xpert SA Nasal Complete. Tutti i ceppi sono stati testati in triplicato usando stock di cellule diluite in concentrazioni pari o prossime al cutoff del saggio. Le unità formanti colonia per test sono state determinate dalla conta in piastra degli stessi volumi e diluizioni.

I ceppi di MRSA (199) e *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (49) sono stati selezionati per rappresentare su larga scala la gamma di diversità genetica riscontrata nelle specie di *Staphylococcus aureus* sulla base della struttura filogenetica.

Le selezioni rappresentano lignaggi primari con enfasi sui complessi clonali specifici in cui è stata osservata la maggiore prevalenza di MRSA. Sono stati inclusi lignaggi contenenti MRSA e *Staphylococcus aureus* meticillino-sensibile, così come quelli contenenti esclusivamente *Staphylococcus aureus* meticillino-sensibile.

Il saggio Xpert SA Nasal Complete ha identificato correttamente tutti i 248 ceppi di *Staphylococcus aureus*: 49 come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE)**; **SA POSITIVO (SA POSITIVE)**; 199 come **MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE)**; **SA POSITIVO (SA POSITIVE)**. I ceppi rappresentano i gruppi Cooper e Feil 1A, 1B e 2, 12 tipi e sottotipi *SCCmec* (I, II, III, IV, IVa, IVb, IVc, IVd, V, VI, VII e VIII), 24 tipi di sequenze (STs), 75 tipi *spa*, 13 tipi PFGE e 18 complessi clonali (CC).

Tutti i 39 isolati USA300 noti sono stati segnalati correttamente come **MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE)**, **SA POSITIVO (SA POSITIVE)**. Le varianti con cassetta vuota, i ceppi BORSA e i ceppi eteroresistenti sono stati tutti correttamente identificati usando il saggio Xpert SA Nasal Complete.

18.4 Sostanze interferenti

Nello studio analitico relativo al saggio Xpert SA Nasal Complete, in 63 dei 2487 campioni di analisi è stato rinvenuto del muco, 32 sono risultati contenere sangue e in 7 è stata rilevata la presenza di altre sostanze non specifiche che avrebbero potuto interferire con il saggio (si noti che alcuni campioni di analisi contenevano più di un tipo di potenziali contaminanti). I test esatti di Fisher condotti sui dati generati dai tamponi con e senza le suddette sostanze potenzialmente interferenti hanno dimostrato che la presenza delle medesime non ha influenzato la sensibilità per MRSA né la sensibilità e la specificità per SA. Per quanto riguarda la specificità per MRSA, si è riscontrato un tasso di falsi positivi leggermente superiore al previsto in associazione con i campioni di analisi contenenti sangue.

In uno studio non clinico, le sostanze potenzialmente interferenti che possono essere presenti nei campioni di analisi nasali sono state analizzate direttamente in relazione alle prestazioni del saggio Xpert SA Nasal Complete. Le sostanze potenzialmente interferenti in campioni di analisi nasali possono comprendere ma non esclusivamente: spray nasali, soluzione fisiologica, decongestionanti e antistaminici (compresi steroidi per via inalatoria nasali), sangue umano e muco. Le sostanze testate sono elencate nella Tabella 6, con indicazione degli ingredienti attivi e delle concentrazioni usate nei test.

In base alle condizioni del presente studio, non è stato osservato alcun effetto inibitore statisticamente significativo nei campioni negativi o positivi, in presenza di sangue umano, muco e dei seguenti spray nasali analizzati con concentrazioni del 100% (v/v): Anefrin, NasalCrom, Neo-Synefrina, soluzione fisiologica, Rhinolast (Astelin) e Zicam gel. I campioni positivi consistevano in due isolati clinici ciascuno di *SCCmec* per SA (N7129 e 102-04) e MRSA dei tipi II (N315) e IVa (MW2), con spike vicino al LoD analitico determinato per ciascun isolato.

Sono stati osservati effetti inibitori sul saggio SA Nasal Complete, con conseguenti risultati non validi, in presenza di steroidi nasali inalati con gli spray Flonase e Nasonex nei campioni negativi in concentrazioni superiori, rispettivamente, al 5% (v/v) e al 10% (v/v). Sono stati osservati effetti inibitori sul saggio SA Nasal Complete, con conseguenti risultati falsi negativi, in presenza di steroidi nasali inalati con gli spray Flonase e Nasonex in tutti gli isolati di MRSA in concentrazioni superiori, rispettivamente, all'1% (v/v) e al 5% (v/v).

Tabella 6. Sostanze nasali potenzialmente interferenti testate

Sostanza	Principio attivo	% testata
Tampone TET (controllo)	Controllo	Controllo
Muco (mucina)	Mucina porcina, rappresentativa delle proteine glicosilate dense (muco)	5% (p/v)
Anefrin Spray (decongestionante)	Ossimetazolina cloridrato allo 0,05%	100% (v/v)
Sangue	N/D	100% (v/v)
NasalCrom (regolatore dei sintomi delle riniti allergiche)	Sodio cromoglicato da 5,2 mg	100% (v/v)
Neo sinefrina (decongestionante nasale)	Fenilefrina cloridrato allo 0,5%	100% (v/v)
Spray salino nasale idratante	Cloruro di sodio allo 0,65%	100% (v/v)
Zicam Gel nasale (sollevio dei sintomi allergici delle vie respiratorie superiori)	Luffa operculata 4x, 12x, 30x Galphimia glauca 12x, 30x Histaminum hydrochloricum 12x, 30x, 200x Zolfo 12x, 30x, 200x	100% (v/v)
Nasonex (farmaco per i sintomi delle riniti allergiche, inalazione di steroidi nasali)	Mometasone furoato monoidrato allo 0,05% (corticosteroide antinfiammatorio)	100% (v/v) 50% (v/v) 25% (v/v) 10% (v/v) 5% (v/v)
Flonase (steroidi nasale per inalazione)	Fluticasone propionato allo 0,05% (corticosteroide)	100% (v/v) 50% (v/v) 25% (v/v) 10% (v/v) 5% (v/v) 1% (v/v)
Rhinolast (spray nasale antistaminico Astelin)	Azelastina cloridrato allo 0,1%	100% (v/v)

18.5 Valutazione delle varianti con cassetta vuota

Ventidue (22) isolati di *Staphylococcus aureus* identificati come “varianti con cassetta vuota” sono stati testati usando il saggio Xpert SA Nasal Complete. Le colture sono state regolate durante la notte su 0,5 unità McFarland ($\sim 3 \times 10^8$ CFU/mL). Le colture sono state ulteriormente diluite 100.000 volte o fino a ~ 3000 CFU/mL. Ogni isolato è stato aggiunto al reagente di eluizione del tampone del saggio Xpert SA Nasal Complete in termini di ~ 300 CFU/test (valore prossimo al LoD del test) e $\sim 3 \times 10^5$ CFU/test.

Tutti i 22 isolati sono stati segnalati correttamente come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE), SA POSITIVO (SA POSITIVE)** ad entrambe le concentrazioni cellulari. Non sono stati segnalati segnali *mecA*. Questi risultati mostrano che, usando il saggio Xpert SA Nasal Complete, le “varianti con cassetta vuota” vengono identificate correttamente come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA POSITIVO (SA POSITIVE)** senza generare risultati di test falsi positivi per MRSA.

18.6 Studio sulla contaminazione da carry-over

È stato condotto uno studio allo scopo di dimostrare che l'impiego delle cartucce chiuse monouso GeneXpert previene la contaminazione da carry-over nelle sessioni di campioni negativi, successive a sessioni con campioni caratterizzati da valori positivi molto elevati all'interno dello stesso modulo GeneXpert. Lo studio consisteva nel trattamento di un campione negativo all'interno dello stesso modulo GeneXpert subito dopo un campione positivo con valori molto elevati di MRSA (circa 10^7 CFU/test). Il processo è stato ripetuto 20 volte su 2 moduli GeneXpert per un totale di 42 sessioni senza che fosse riscontrata alcuna evidenza di contaminazione da trascinarsi. I 20 campioni negativi trattati subito dopo i campioni con valori positivi molto elevati sono stati tutti correttamente segnalati come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA NEGATIVO (SA NEGATIVE)**. Tutti i 20 campioni positivi sono stati segnalati correttamente come **MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE), SA POSITIVO (SA POSITIVE)**.

19. Riproducibilità

Un pannello di 10 campioni di analisi con diverse concentrazioni di SA, MRSA e Staphylococcus epidermidis (negativo) sono stati testati in duplicato in 10 diversi giorni in ciascuno dei tre siti (10 campioni di analisi x 2 volte/giorno x 10 giorni x 3 siti). In ognuno dei 3 siti di test è stato usato un lotto di kit Xpert SA Nasal Complete. I saggi Xpert SA Nasal Complete sono stati condotti in conformità con le procedure Xpert SA Nasal Complete. I risultati sono riepilogati nelle Tabella 7 e Tabella 8. Si noti che, poiché le concentrazioni di campioni con valori negativi elevati erano prossime al LoD, alcuni risultati positivi erano prevedibili.

Tabella 7. Riepilogo dei risultati di riproducibilità (tutti)¹

ID campione di analisi	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Concordanza totale
Neg. (MSSE)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
SA – Neg. alto	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	95,0% (57/60)
SA – Pos. basso	85,0% (17/20)	95,0% (19/20)	100% (20/20)	93,3% (56/60)
SA – Pos. moder.	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA1 – Neg. alto	100% (20/20)	95,0% (19/20)	85,0% (17/20)	93,3% (56/60)
MRSA1 – Pos. basso	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	100% (20/20)	96,7% (58/60)
MRSA1 – Pos. moder.	95,0% (19/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	98,3% (59/60)
MRSA2 – Neg. alto	60,0% (12/20)	60,0% (12/20)	50,0% (10/20)	56,7% (34/60)
MRSA2 – Pos. basso	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	95,0% (19/20)	95,0% (57/60)
MRSA2 – Pos. moder.	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
% concordanza totale per sito	92,5% (185/200)	93,5% (187/200)	92,5% (185/200)	92,8% (557/600)

¹ Per i campioni negativi e negativi alti, % concordanza = (nr. risultati negativi/totale campioni analizzati); per i campioni positivi moderati e bassi, % concordanza = (nr. risultati positivi/totale campioni analizzati).

Tabella 8. Riepilogo dei risultati dei valori Ct per livello del campione e bersaglio

SPC			
Livello	Media	Dev. std	% CV
Neg. (MSSE)	34,3	0,72	2,1
SA neg. alto	34,3	0,75	2,2
MRSA1 neg. alto	34,6	0,86	2,5
MRSA2 neg. alto	34,6	0,75	2,2
Spa			
Livello	Media	Dev. std	% CV
SA pos. basso	33,7	0,91	2,7
SA pos. moderato	31,6	0,71	2,2
MRSA1 pos. basso	32,6	1,53	4,7
MRSA1 pos. moderato	31,7	0,79	2,5
MRSA2 pos. basso	32,7	0,97	3,0
MRSA2 pos. moderato	30,6	0,85	2,8
mecA			
Livello	Media	Dev. std	% CV
MRSA1 pos. basso	33,3	0,88	2,6
MRSA1 pos. moderato	32,2	0,82	2,5
MRSA2 pos. basso	33,4	1,02	3,1
MRSA2 pos. moderato	31,1	0,75	2,4
SCCmec			
Livello	Media	Dev. std	% CV
MRSA1 pos. basso	34,1	0,86	2,5
MRSA1 pos. moderato	32,9	0,79	2,4
MRSA2 pos. basso	34,6	1,19	3,4
MRSA2 pos. moderato	32,5	0,80	2,5

20. Riferimenti bibliografici

1. Bode LGM, Kluytmans JAJW, Wertheim HFL, et al. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med. 2010;362(1):9-17.
2. Wenzel, RP. Editorial: Minimizing Surgical-Site Infections. N Engl J Med. 2010;362(1):75-77.
3. Bannerman TL. Chapter 28: *Staphylococcus*, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, D.C. 2003; 384-404.
4. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004. Am J Infect Control 2004; 32:470-485.
5. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. Control of endemic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. J Am Medical Assoc. 1999; 282(19):1745-1751.
6. Das I, O'Connell N, Lambert P. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. 1: J Hosp Infect. 2007 Feb;65(2):117-23.
7. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 7(2):323-326.
8. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. Cleveland Clinic J Med. 72(3):235-241.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
11. 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)).
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

21. Cepheid Ubicazione delle sedi centrali

Sede centrale globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Stati Uniti
Telefono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede centrale europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francia
Telefono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22. Assistenza Tecnica

Prima di contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

- Nome del prodotto
- Numero di lotto
- Numero di serie dello strumento
- Messaggi di errore (se presenti)
- Versione del software e, se pertinente, codice riportato sull'etichetta di servizio (Service Tag) del computer



















Informazioni di contatto

Stati Uniti
Telefono: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

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

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Assistenza Tecnica di Cepheid sono disponibili nel sito:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23. Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Codice lotto
	Marchatura CE – Conformità europea
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Non riutilizzare
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
	Produttore
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per <n> test
	Data di scadenza
	Controllo
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Attenzione
	Mandataire en Suisse
	Importateur



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089-1189
 USA
 Telefono: + 1 408 541 4191
 Fax: + 1 408 541 4192

Cepheid Europe S.A.S.
 Vira Solelh
 81470 Maurens-Scopont
 Francia
 Tel.: + 33 563 82 53 00
 Fax: + 33 563 82 53 01



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



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

