

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

REF GXMRSA/SABC-CE-10

Istruzioni per l'uso

CE **IVD**

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.

© 2019–2023 Cepheid.

See Section 23, Revision History, for a description of changes.

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid®, il logo Cepheid, GeneXpert® e Xpert® sono marchi di Cepheid, registrati negli USA e in altri Paesi.

Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi titolari.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO IN ACCORDO ALLE PRESENTI ISTRUZIONI PER L'USO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

© 2019-2023 Cepheid.

Vedere Sezione 23 per una descrizione delle modifiche.

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*

1 Nome registrato

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

2 Nome comune o usuale

Xpert MRSA/SA Blood Culture o Xpert MRSA/SA BC

3 Destinazione d'uso

Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture di Cepheid eseguito sui sistemi di strumentazione GeneXpert[®] è un test diagnostico qualitativo *in vitro* previsto per il rilevamento rapido e simultaneo dello *Staphylococcus aureus* (SA) e dello *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) in pazienti con emocolture positive. Il test utilizza la reazione a catena della polimerasi (PCR), automatizzata e in real time, per il rilevamento del DNA dell'MRSA/SA. Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture è previsto come ausilio per il rilevamento e l'identificazione di MRSA/SA da flaconi per emocoltura positiva. Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture è previsto per l'uso assieme ad altri test di laboratorio, quali le colture, e ad altri dati clinici a disposizione del medico, come ausilio nel rilevamento di MRSA/SA nelle emocolture positive dei pazienti. La creazione di sottocolture di emocolture positive è necessaria per il recupero degli organismi per i test di sensibilità o per la tipizzazione epidemiologica. Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture di Cepheid non è finalizzato al monitoraggio del trattamento delle infezioni da MRSA/SA.

4 Riepilogo e spiegazione

Lo *Staphylococcus aureus* (SA) è un patogeno umano responsabile di una vasta gamma di malattie, tra cui batteriemia, endocardite, osteomielite, sindrome da shock tossico, intossicazioni alimentari, foruncolosi e carbonchio. Nei primi anni cinquanta, l'acquisizione e la diffusione dei plasmidi che producono la beta-lattamasi ostacolò l'efficacia della penicillina nel trattamento delle infezioni da SA. Nel 1959, è stata introdotta la meticillina, una penicillina semisintetica, e, poco dopo, sono stati identificati ceppi di SA meticillino-resistente (MRSA). Oggi è noto che la resistenza viene conferita quando l'SA acquisisce il complesso genico *mec* che contiene il gene *mecA* e potenzialmente altre varianti *mecA* come *mecA*_{LGA251} denominata *mecC*. Negli Stati Uniti oggi, l'MRSA è responsabile di circa il 25% delle infezioni correlate all'assistenza sanitaria, con conseguente morbilità e mortalità significative.

Per le batteriemie da MRSA e SA meticillino-sensibile (MSSA) sono state segnalate significative mortalità ad esse attribuibili. Attualmente, il metodo standard per il rilevamento di SA compreso l'MRSA da flaconi di emocoltura è tramite coltura *in vitro*. La sanità pubblica può trarre benefici da un metodo rapido e sensibile di test dello SA, compreso l'MRSA.^{1,2,3,4,5,6}

5 Principio della procedura

I sistemi di strumentazione GeneXpert consentono di automatizzare e integrare la preparazione dei campioni, la purificazione e l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi utilizzando i saggi PCR e RT-PCR real time. I sistemi comprendono uno strumento, un computer e un software già installato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'uso di cartucce

monouso che contengono i reagenti PCR e consentono il processo di PCR. Grazie alle cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa del sistema, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*.

Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture include i reagenti per il rilevamento dell'MRSA e dell'SA, oltre a un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) utilizzato per verificare che i batteri bersaglio siano stati trattati in modo adeguato e indicare la presenza di sostanze inibitrici nella reazione PCR. Il controllo SPC garantisce inoltre che le condizioni della reazione di PCR (temperatura e tempo) siano adeguate alla reazione di amplificazione e che i reagenti PCR siano funzionali. Un ulteriore controllo interno, il controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC) verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità del colorante.

I primer e le sonde del test Xpert MRSA/SA Blood Culture rilevano le sequenze proprietarie della proteina A stafilococcica (*spa*), il gene della resistenza alla meticillina (*mecA*) e il cromosoma *mec* (*SCCmec*) della cassetta stafilococcica inserito nel sito cromosomico *attB* dell'SA. I bersagli vengono utilizzati singolarmente o in combinazione per identificare e differenziare l'SA e l'MRSA.

Per gli MRSA presenti nel flacone di emocoltura in assenza di altre specie batteriche, il saggio utilizza algoritmi basati su regole in cui vengono messi a confronto i valori del ciclo soglia (Ct) dei tre bersagli (*spa*, *mecA* e *SCCmec*) per determinare se i bersagli derivano dallo stesso microrganismo MRSA. L'MRSA è considerato presente quando: 1) tutti e tre i bersagli hanno valori Ct compresi nell'intervallo di validità ed endpoint al di sopra del valore minimo, 2) in assenza di *SCCmec*, le condizioni degli algoritmi basati su regole sono soddisfatte per i valori Ct di *mecA* e *spa*, o 3) in assenza di *spa*, le condizioni degli algoritmi basati su regole sono soddisfatte per i valori Ct di *mecA* e *SCCmec*.

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiale fornito

Il kit Xpert MRSA/SA Blood Culture contiene una quantità di reagenti sufficiente per il trattamento di 10 campioni di analisi dei pazienti o campioni di controllo qualità. V Il contenuto del kit è il seguente:

Cartucce Xpert MRSA/SA Blood Culture con annesse provette di reazione integrate	10
<ul style="list-style-type: none"> • Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate) • Reagente 1 • Reagente 2 (idrossido di sodio) 	1 di ciascuna per cartuccia 3 ml per cartuccia 3 ml per cartuccia 10 x 2,0 ml
Reagente di eluizione Xpert MRSA/SA Blood Culture (cloridrato di guanidina e surfattanti)	12
Pipette di trasferimento monouso a volume fisso (50 µl) CD	1 per kit
<ul style="list-style-type: none"> • File di definizione del saggio (ADF) • Istruzioni per l'importazione degli ADF nel software GeneXpert • Istruzioni per l'uso (package insert) 	

Nota Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nei siti www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com nella scheda **SUPPORTO (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.

6.2 Conservazione e manipolazione

- Le cartucce e i reagenti del test Xpert MRSA/SA Blood Culture vanno conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.
- Non utilizzare i reagenti, le pipette o le cartucce oltre la data di scadenza.
- Aprire la pipetta o il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.

6.3 Materiali necessari ma non forniti

- Sistema GeneXpert Dx o sistema GeneXpert Infinity (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): strumento GeneXpert, computer, penna ottica per codici a barre e Manuale dell'operatore
 - Per il sistema GeneXpert Dx: Software GeneXpert Dx versione 5.3 o superiore.
 - Per i sistemi GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: Software Xpertise versione 6.8 o successiva.
- Stampante: se fosse necessario l'uso di una stampante, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Miscelatore vortex
- Pipette di trasferimento sterili monouso (per trasferire il campione alla cartuccia)

6.4 Materiali disponibili non in dotazione

KWIK-STIK™™ di Microbiologics con numero di prodotto 0158MRSA (SCC*mec* tipo II) e numero di prodotto 0360MSSA (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*) possono essere utilizzati come controlli positivi esterni, e con numero di prodotto 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* meticillino-sensibile) come controllo negativo esterno.

7 Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- 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 nel rispetto delle precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso i Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie negli Stati Uniti (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁸ e l'Istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁸
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi nel rispetto delle precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali in uso presso la struttura di riferimento per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento occorre 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. Consultare il personale addetto allo smaltimento dei rifiuti ambientali della propria struttura per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti inutilizzati.⁹
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di riferimento.
- Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture non fornisce risultati sulla sensibilità antimicrobica. È necessario creare ulteriori sottocolture di tutte le emocolture positive per i test di sensibilità.
- In una coltura mista contenente MRSA/SA e altri microrganismi (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.
- Non sostituire il reagente di eluizione di Xpert MRSA/SA Blood Culture con altri reagenti.
- Non utilizzare le cartucce dopo averle fatte cadere o agitate.
- Non utilizzare la cartuccia se la relativa provetta di reazione è danneggiata.
- Non utilizzare i reagenti se appaiono torbidi o scoloriti.
- Non utilizzare cartucce nuove che presentano perdite. La presenza di liquido sulla parte esterna di una cartuccia usata può indicare un problema.
- Ciascuna cartuccia monouso del test Xpert MRSA/SA Blood Culture va utilizzata per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce usate.

- I seguenti terreni di emocoltura possono essere usati nel test Xpert MRSA/SA Blood Culture:
 - Terreno BACTEC™ PEDS PLUS™/F
 - Terreno BACTEC™ Plus Aerobic/F
 - Terreno BACTEC™ Plus Anaerobic/F
 - Terreno BACTEC™ Standard Anaerobic/F
 - Terreno BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
 - Flaococini di coltura BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
 - bioMérieux BacT/ALERT® SA standard aerobico
 - bioMérieux BacT/ALERT® SN standard anaerobico
 - VersaTREK™ REDOX™ 1R (aerobico)
 - VersaTREK™ REDOX™ 2R (anaerobico)
- Con il test Xpert MRSA/SA Blood Culture non possono essere usati terreni di emocoltura contenenti carbone attivo.
- Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture deve essere usato unicamente per testare i flaconi di emocoltura positivi alla colonizzazione microbica e mostrati contenere GPCC (cocchi Gram-positivi in cluster) o GPC (cocchi Gram-positivi singoli) tramite la colorazione di Gram.

8 Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

Nota I risultati delle emocolture sono fondamentali per il trattamento dei pazienti. Attenersi ai protocolli e alle prassi consolidate del laboratorio/presidio per la segnalazione (orale, scritta o elettronica) agli operatori sanitari dei risultati delle emocolture positive.

- Quando positivi per la crescita, rimuovere i flaconi per emocoltura dall'incubatrice. La colorazione di Gram deve essere applicata alle emocolture positive attenendosi alle procedure standard del laboratorio.
- Per i flaconi di emocoltura positiva che mostrano GPCC (cocchi Gram-positivi in cluster) o GPC (cocchi Gram-positivi singoli) tramite la colorazione di Gram, raccogliere circa 1 ml di campione di analisi dell'emocoltura positiva ed etichettarlo con l'ID campione.
- Se il campione di analisi verrà analizzato entro 24 ore, refrigerare a 2 °C - 8 °C o conservare a temperatura ambiente. Se il campione di analisi verrà analizzato dopo 24 ore, refrigerare a 2 °C - 8 °C per massimo tre giorni. I campioni di analisi che sono stati conservati a temperatura ambiente per più di 24 ore o refrigerati a 2 °C - 8 °C per più di tre giorni non devono essere analizzati con il test Xpert MRSA/SA Blood Culture.

9 Pericoli chimici^{10, 11}

- Pittogramma di pericolo UN GHS: 
- Parola: 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.
 - Indossare guanti/indumenti protettivi/protezione per 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: in caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico immediatamente.
- Sciacquare la bocca.
- **Stoccaggio/Smaltimento**
 - Smaltire prodotto e/o recipiente in conformità con normative locali, regionali, nazionali e/o normative internazionali.

10 Procedura

10.1 Preparazione della cartuccia

Importante

Se si utilizza uno strumento GeneXpert Dx, iniziare il test entro 3 ore dall'introduzione del campione preparato nella cartuccia. Se si utilizza un sistema GeneXpert Infinity, accertarsi di avviare il test e mettere la cartuccia sul trasportatore entro 30 minuti dall'aggiunta del campione alla cartuccia. Il software Xpertise tiene traccia del periodo di stabilità rimasto in modo che i test vengano iniziati prima della scadenza a bordo di 3 ore.

Per aggiungere il campione e il reagente di eluizione alla cartuccia, procedere nel modo seguente:

1. Estrarre dalla confezione la cartuccia e il reagente di eluizione.
2. Miscelare delicatamente a mano il campione di emocoltura. Non utilizzare il vortex.
3. Utilizzando la pipetta a volume fisso in dotazione (50 µl), trasferire il campione di coltura ematica positiva contenuto nella pipetta a volume fisso nel flaconcino del reagente di eluizione procedendo come segue:
 - a. Comprimere saldamente la parte superiore del bulbo della pipetta.
 - b. Mentre si esegue la compressione, immergere il puntale della pipetta nel campione.
 - c. Con la pipetta ancora nel campione, rilasciare la pressione sul bulbo in modo da riempire la pipetta.
 - d. Posizionare il puntale della pipetta sull'apertura del flaconcino del reagente di eluizione.
 - e. Comprimere saldamente la parte superiore del bulbo per svuotare il contenuto della pipetta nel flaconcino del reagente di eluizione. È normale che nel bulbo di sovrappieno rimanga del liquido in eccesso.

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

4. Chiudere il tappo del reagente di eluizione e miscelare su vortex ad alta velocità per 10 secondi.
5. Aprire il coperchio della cartuccia. Usando una pipetta di trasferimento (non in dotazione), trasferire l'intero contenuto del flaconcino di reagente di eluizione nella camera del campione della cartuccia di test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Vedere la Figura 1.
6. Chiudere il coperchio della cartuccia e avviare l'analisi.



Figura 1. Cartuccia di MRSA/SA Blood Culture (vista dall'alto)

10.2 Avvio del test

Importante Se si sta utilizzando un sistema *GeneXpert Dx*, prima di iniziare il test verificare che il sistema stia eseguendo il software *GeneXpert Dx* versione 4.7b o superiore e che nel software sia stato importato il file di definizione del saggio corretto.

Importante Se si sta utilizzando un sistema *GeneXpert Infinity*, prima di iniziare il test verificare che il sistema stia eseguendo il software *Xpertise* versione 6.4b o superiore e che nel software sia stato importato il file di definizione del saggio corretto.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*, a seconda del modello utilizzato.

Nota I passaggi da seguire possono variare se l'amministratore del sistema modifica il flusso di lavoro predefinito del sistema.

1. Accendere lo strumento *GeneXpert*.
 - Se si utilizza lo strumento *GeneXpert Dx*, accendere prima lo strumento e poi il computer. Il software *GeneXpert* si avvia automaticamente. Se ciò non dovesse accadere, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software *GeneXpert Dx* sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo strumento *GeneXpert Infinity*, accenderlo. Il software *Xpertise* si avvia automaticamente. Se non si avvia, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software *Xpertise* sul desktop di Windows®.
2. Connettersi al software del sistema di strumentazione *GeneXpert* usando il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema **GeneXpert**, fare clic su **Crea analisi (Create Test)** (*GeneXpert Dx*) o **Ordini (Orders)** e **Ordina analisi (Order Test)** (*Infinity*). Viene visualizzata la finestra **Crea analisi (Create Test)**. Si aprirà la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID paziente (Scan Patient ID Barcode)**.
4. Eseguire la scansione dell'ID paziente (Patient ID) o digitarlo. Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e in tutti i rapporti. Verrà visualizzata la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID campione (Scan Sample ID Barcode)**.
5. Inserire l'ID campione (Sample ID) tramite scansione o manualmente. Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del campione sarà associato ai risultati del test e riportato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e su tutti i rapporti. Si aprirà 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. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: Seleziona saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).

Nota Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia, ripetere il test con una cartuccia nuova. Se è stata eseguita la scansione del codice a barre della cartuccia nel software e il file di definizione del saggio non è disponibile, apparirà una schermata in cui si indica che il file di definizione del saggio non è stato caricato nel sistema. Se compare tale schermata, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid.

7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)** (*GeneXpert Dx*) o **Inoltra (Submit)** (*Infinity*). Se richiesto, digitare la propria password nella finestra di dialogo visualizzata.
8. Per il sistema *GeneXpert Infinity*, posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. La cartuccia viene caricata automaticamente, il test viene eseguito e la cartuccia usata viene quindi collocata nel contenitore dei rifiuti.

oppure

Per lo strumento *GeneXpert Dx*:

 - a) Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
 - b) Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia si spegne.
 - c) Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo. Quindi rimuovere la cartuccia.
 - d) Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori dei rifiuti di campioni di analisi attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

10.3 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate su come visualizzare e stampare i risultati, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Infinity*.

1. Per visualizzare i risultati, fare clic sull'icona **Visualizza risultati (View Results)**.
2. Una volta completato il test, fare clic sul pulsante **Rapporto (Report)** nella finestra Visualizza risultati (View Results) per visualizzare e/o generare un file di rapporto in formato PDF.

11 Controllo qualità

11.1 Controlli di qualità incorporati

Ciascun test comprende un controllo per il trattamento dei campioni (Sample Processing Control, SPC) e un controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC).

- **Controllo per il trattamento dei campioni (SPC)** — L'SPC ha lo scopo di indicare se il campione è stato elaborato in specifiche condizioni operative. Il controllo SPC contiene spore di *Bacillus globigii*, presenti in ogni cartuccia sotto forma di microsferi di spore essiccate, per verificare il corretto trattamento del campione Xpert MRSA/SA Blood Culture. Il controllo SPC accerta l'avvenuta lisi dell'SA, qualora i microrganismi siano presenti, e verifica che il trattamento dei campioni di analisi sia adeguato. Inoltre, questo controllo rileva l'inibizione del saggio di PCR in tempo reale associata al campione di analisi e funge da controllo positivo interno. Il segnale 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. Il risultato del test è Non valido (Invalid) se l'SPC non viene rilevato in un campione negativo.
- **Controllo per la verifica della sonda (PCC)** — Prima che inizi la reazione PCR, il sistema GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsferi, 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.

11.2 Controlli esterni

I controlli esterni devono essere usati in conformità ai requisiti degli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

Possono essere usati KWIK-STIK (Microbiologics, numero di prodotto 0158 MRSA [SCC*mec* tipo II] e numero di prodotto 0360 MSSA come controlli positivi e numero di prodotto 0371 MSSE come controllo negativo) a scopo di addestramento e controllo di qualità esterno del sistema di strumentazione GeneXpert. Per i controlli esterni, attenersi alla procedura Microbiologics 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 picchiettare 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 miscelare il fluido schiacciando. Tastare i lati del KWIK-STIK per confermare che il pellet non sia più palpabile.
5. Rimuovere il cappuccio dal KWIK-STIK per esporre il tampone, quindi rompere il tampone nella provetta contenente il reagente di eluizione (tappo a vite).
6. Chiudere il tappo e miscelare in vortex ad alta velocità per 10 secondi.
7. Procedere alle fasi analitiche successive a partire dal passaggio 5 della Sezione 10.1, Preparazione della cartuccia.
8. Se il controllo di qualità esterno non sortisce l'esito desiderato, ripetere il test di controllo esterno e/o contattare Cepheid per ricevere assistenza.

12 Interpretazione dei risultati

I sistemi GeneXpert generano i risultati dai segnali fluorescenti misurati e da algoritmi di calcolo utilizzati dal software dei sistemi GeneXpert. I risultati vengono presentati nella finestra Visualizza risultati (View Results). Vedere Tabella 1 e Figura 2, Figura 3, Figura 4 e Figura 5.

Per gli MRSA presenti nel flacone di emocoltura in assenza di altre specie batteriche, il saggio utilizza algoritmi basati su regole in cui vengono messi a confronto i valori del ciclo soglia (Ct) dei tre bersagli (*spa*, *mecA* e *SCCmec*) per determinare se i bersagli derivano dallo stesso microrganismo MRSA.

Tabella 1. Risultati e interpretazione del saggio Xpert MRSA/SA Blood Culture

Risultato	Interpretazione
MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE)/SA POSITIVO (SA POSITIVE) (Figura 2)	<p>MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE)/SA POSITIVO (SA POSITIVE) — Se si verifica una delle seguenti condizioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> tutti i bersagli per MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>) sono presenti, oppure <i>SCCmec</i> non è presente e le condizioni degli algoritmi basati su regole sono soddisfatte per i valori Ct di <i>mecA</i> e <i>spa</i>, oppure <i>spa</i> non è presente e le condizioni degli algoritmi basati su regole sono soddisfatte per i valori Ct di <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>. SPC — NA (non applicabile); il segnale SPC non è parte dell'interpretazione dei risultati in questo caso in quanto l'amplificazione dell'MRSA può competere con questo controllo. Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE)/SA POSITIVO (SA POSITIVE) (Figura 3)	<p>MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE)/SA POSITIVO (SA POSITIVE) – Se si verifica una delle seguenti condizioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>spa</i> è presente e <i>mecA</i> non è presente, oppure <i>spa</i> non è presente e le condizioni degli algoritmi basati su regole non sono soddisfatte per i valori Ct di <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>, oppure <i>SCCmec</i> non è presente e le condizioni degli algoritmi basati su regole non sono soddisfatte per i valori Ct di <i>mecA</i> e <i>spa</i>. SPC — NA (non applicabile); il segnale SPC non è parte dell'interpretazione dei risultati in questo caso in quanto l'amplificazione dell'SA può competere con questo controllo. Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE)/SA NEGATIVO (SA NEGATIVE) (Figura 4)	<ul style="list-style-type: none"> MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE)/SA NEGATIVO (SA NEGATIVE) — Il SA bersaglio (<i>spa</i>) non è presente e se si verifica una delle seguenti condizioni: <ul style="list-style-type: none"> <i>mecA</i> non è presente, oppure <i>SCCmec</i> non è presente, oppure sia <i>mecA</i> che <i>SCCmec</i> sono presenti e le condizioni degli algoritmi basati su regole non sono soddisfatte per i valori Ct di <i>mecA</i> e <i>SCCmec</i>. SPC — AMMESSO (PASS); il controllo SPC presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore minimo. Oppure se uno o più analiti bersaglio sono positivi, l'SPC viene ignorato. Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Risultato	Interpretazione
<p>NON VALIDO (INVALID) (Figura 5)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Non è possibile determinare la presenza o l'assenza delle sequenze bersaglio MRSA/SA; ripetere il test con un nuovo campione. L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione, il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita. ● NON VALIDO (INVALID) — La presenza o l'assenza di DNA di <i>Staphylococcus aureus</i> non può essere determinata. ● SPC — RESPINTO (FAIL); 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 minimo. ● Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
<p>ERRORE (ERROR)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di MRSA/SA; ripetere il test con un nuovo campione. Un errore potrebbe essere dovuto al riempimento inadeguato della provetta di reazione, a un problema di integrità della sonda o al superamento dei limiti massimi di pressione. ● MRSA — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) ● SA — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) ● SPC — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) ● Verifica della sonda — RESPINTO* (FAIL); uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi. ● *Se la verifica della sonda viene superata, l'errore è causato dal guasto di un componente del sistema o dal superamento del limite di pressione massimo.
<p>NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Non è possibile determinare la presenza o l'assenza delle sequenze di DNA bersaglio per MRSA/SA; ripetere il test attenendosi alle istruzioni fornite nella sezione seguente. La quantità di dati raccolta non è sufficiente per generare i risultati del test. Una simile evenienza si verifica, per esempio, se l'operatore ha interrotto l'esecuzione di un test in corso. ● MRSA — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) ● SA — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) ● SPC — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) ● Verifica della sonda — NA (non applicabile)

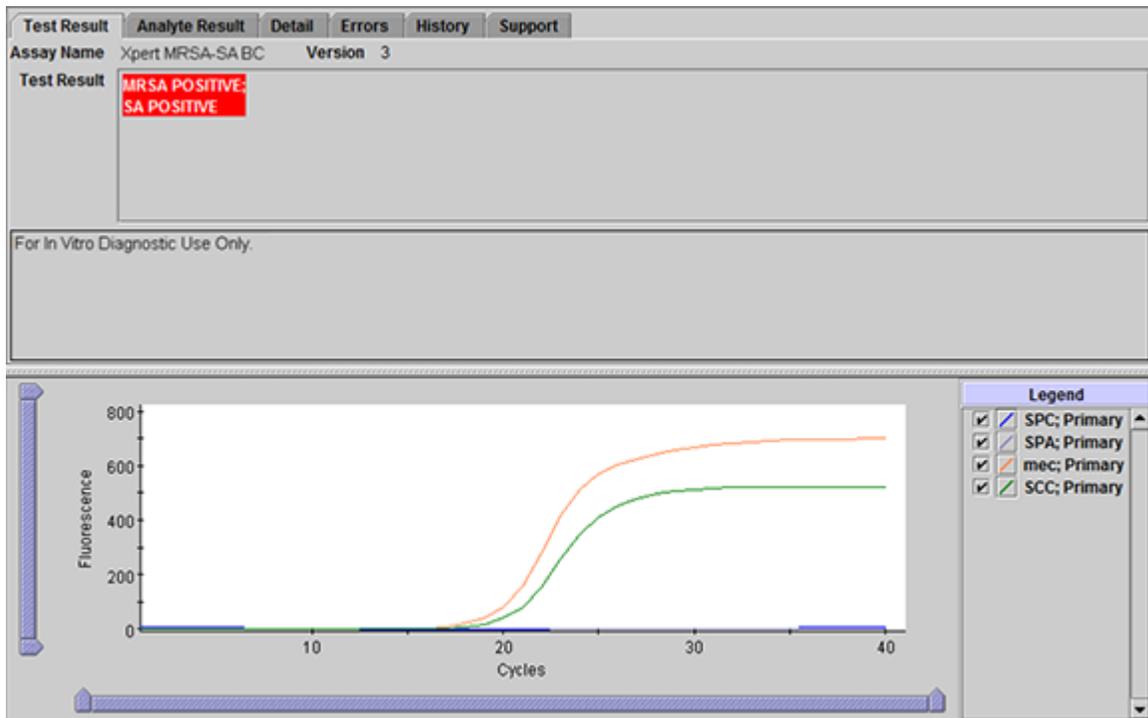


Figura 2. Esempio di risultato MRSA positivo

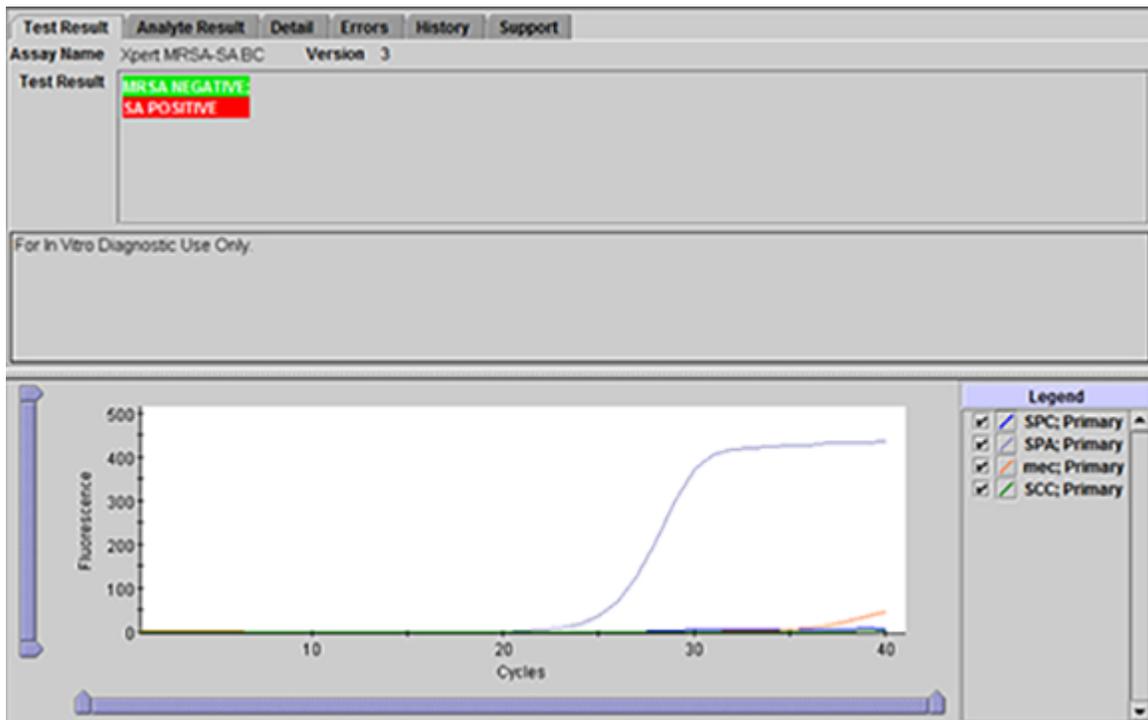


Figura 3. Esempio di risultato SA positivo

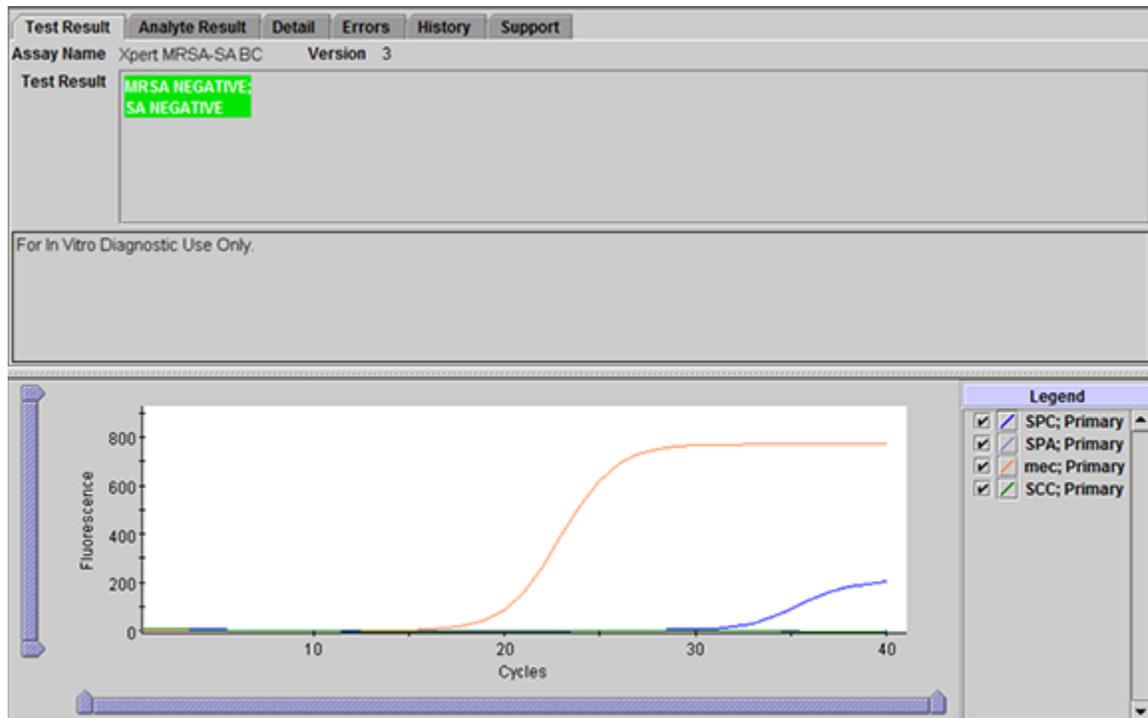


Figura 4. Esempio di risultato negativo

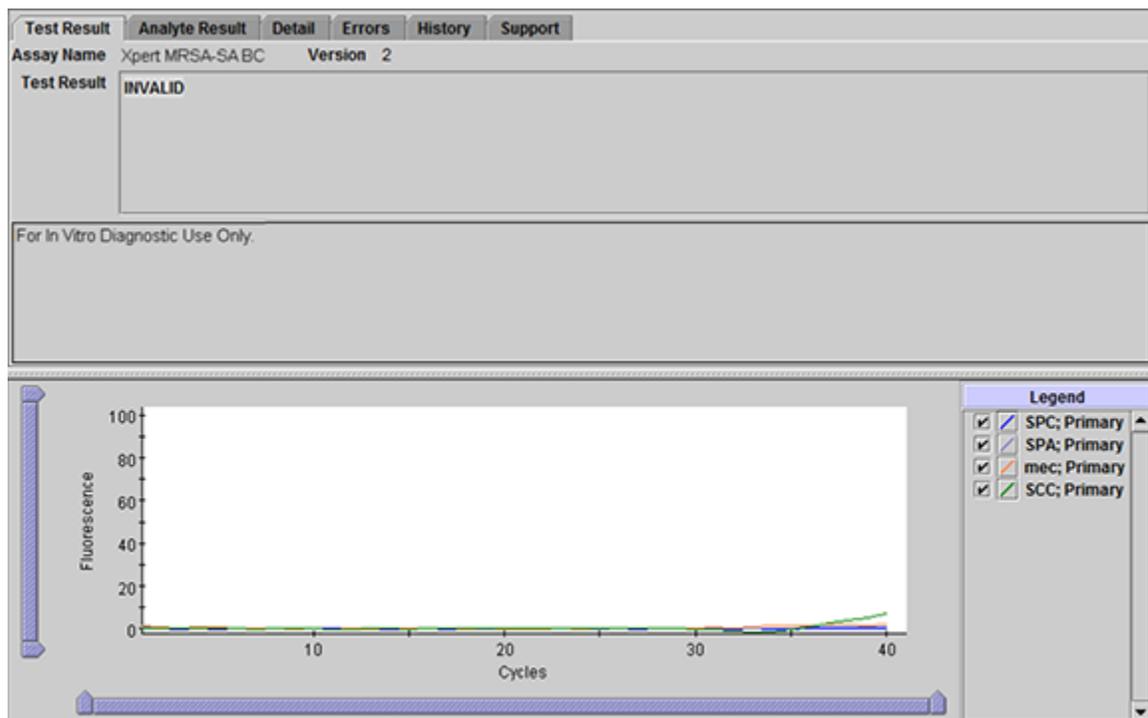


Figura 5. Esempio di risultato non valido

12.1 Motivi per ripetere il test

Il campione di analisi deve essere ritestato se dalla prima analisi si ottiene uno dei seguenti risultati.

- 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.
- Il risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il controllo per la verifica della sonda non ha avuto esito positivo e il saggio è stato interrotto, probabilmente a causa del riempimento inadeguato della provetta di reazione, dell'individuazione di un problema a livello di integrità della sonda con reagente o del superamento dei limiti massimi di pressione.
- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.
- Se il controllo qualità esterno non sortisce l'esito desiderato, ripetere il test di controllo esterno e/o contattare Cepheid per ricevere assistenza.

12.2 Procedura di ripetizione del test

Ripetere il test con una nuova cartuccia (non riutilizzare la cartuccia) e un nuovo flaconcino di reagente di eluizione.

Se si utilizza un strumento GeneXpert Dx, iniziare il test entro 3 ore dall'introduzione del campione preparato nella cartuccia. Quando si utilizza un sistema GeneXpert Infinity, accertarsi di avviare il test e mettere la cartuccia sul trasportatore entro 30 minuti dall'aggiunta del campione alla cartuccia. Il software Xpertise tiene traccia del periodo di stabilità rimasto in modo che i test vengano iniziati prima della scadenza a bordo di 3 ore.

1. Estrarre dalla confezione la cartuccia e il reagente di eluizione.
2. Miscelare delicatamente a mano il campione di emocoltura. Non utilizzare il vortex.
3. Utilizzando la pipetta a volume fisso in dotazione (50 µl), trasferire il campione di coltura ematica positiva contenuto nella pipetta a volume fisso nel flaconcino del reagente di eluizione procedendo come segue:
 - a. Comprimer saldamente la parte superiore del bulbo della pipetta.
 - b. Mentre si esegue la compressione, immergere il puntale della pipetta nel campione.
 - c. Con la pipetta ancora nel campione, rilasciare la pressione sul bulbo in modo da riempire la pipetta.
 - d. Posizionare il puntale della pipetta sull'apertura del flaconcino del reagente di eluizione.
 - e. Comprimer saldamente la parte superiore del bulbo per svuotare il contenuto della pipetta nel flaconcino del reagente di eluizione. È normale che nel bulbo di sovrappieno rimanga del liquido in eccesso.
4. Chiudere il tappo del reagente di eluizione e miscelare su vortex ad alta velocità per 10 secondi.
5. Aprire il coperchio della cartuccia. Usando una pipetta di trasferimento (non in dotazione), trasferire l'intero contenuto del flaconcino di reagente di eluizione nella camera del campione della cartuccia Xpert MRSA/SA Blood Culture. Vedere la Figura 1.
6. Chiudere il coperchio della cartuccia e avviare l'analisi.

13 Limitazioni

- Le prestazioni del test Xpert MRSA/SA Blood Culture sono state convalidate usando unicamente le procedure specificate nel presente foglietto illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni del test. I risultati del test Xpert MRSA/SA Blood Culture devono essere interpretati insieme ad altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico.
- Le prestazioni del test Xpert MRSA/SA Blood Culture con flaconi di emocolture diversi da BD BACTEC PEDS PLUS/ F, BACTEC Plus Aerobic/F, BD BACTEC Plus Anaerobic/F, BD BACTEC Standard Anaerobic/F, BD BACTEC Standard/10 Aerobic/F, BD BACTEC LYTIC/10 Anaerobic/F, BacT/ALERT SA (Standard Aerobic), BacT/ALERT SN (Standard anaerobic), VersaTREK REDOX 1 (Aerobic) e VersaTREK REDOX 2 (Anaerobic) non sono state definite.
- Con il test Xpert MRSA/SA Blood Culture non possono essere usati terreni di emocoltura contenenti carbone attivo (ad esempio, BacT/ALERT FAN aerobic).
- Le analisi con il test Xpert MRSA/SA Blood Culture devono essere utilizzate in aggiunta ad altri metodi disponibili.
- 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.
- Si possono ottenere risultati del test erranei 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 microrganismi 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 erranei.

- I risultati dei test Xpert MRSA/SA Blood Culture possono a volte essere NON VALIDO (INVALID), ERRORE (ERROR) o NESSUN RISULTATO (NO RESULT), e richiedere la ripetizione del test con conseguenti ritardi nell'ottenimento dei risultati finali.
- È possibile rilevare concentrazioni bersaglio al di sotto del LoD, ma i risultati possono non essere riproducibili.
- Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture può generare un risultato falso negativo per MRSA durante l'analisi di SA con resistenza borderline all'oxacillina (BORSA). Il meccanismo della resistenza all'oxacillina nei ceppi BORSA può essere dovuto ad altri fattori (ad esempio a un'aumentata produzione di β -lattamasi) e non alla presenza del gene *mecA*. Ai microrganismi BORSA con oxacillina MIC (concentrazione minima inibente) pari a 4–8 $\mu\text{g/ml}$ viene attribuita una resistenza borderline, ma potrebbero essere segnalati come MRSA negativo dal test Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture può generare un risultato falso negativo per MRSA durante l'analisi di SA modificato (MOD-SA). Il meccanismo della resistenza all'oxacillina nei ceppi MOD-SA è dovuto ad altri fattori (ad esempio, modifiche dell'affinità delle proteine leganti la penicillina per l'oxacillina) e non alla presenza del gene *mecA*. Ai microrganismi MOD-SA con oxacillina MIC (concentrazione minima inibente) pari a 4–8 $\mu\text{g/ml}$ viene attribuita una resistenza borderline, ma potrebbero essere segnalati come MRSA negativo dal test Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture genererà risultati falsi negativi per MRSA durante l'analisi di un ceppo contenente un omologo *mecA* noto come *mecC*, quale lo SA LGA251.
- Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture potrebbe generare un risultato falso positivo per MRSA durante l'analisi di un campione di analisi contenente stafilococchi meticillino-resistenti coagulasi-negativi (MRCNS) e *Staphylococcus aureus* meticillino-sensibile.
- Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture può generare un risultato MRSA falso negativo durante il test di un campione di emocoltura contenente più ceppi.
- Un risultato positivo del test non indica necessariamente la presenza di microrganismi vitali, ma può comunque essere indicativo della presenza di MRSA o SA.

14 Valori attesi

Nello studio clinico su Xpert MRSA/SA Blood Culture, sono stati inclusi un totale di 792 campioni di analisi di emocolture da otto siti statunitensi. Il numero e la percentuale di campioni di analisi positivi come determinato dal metodo della coltura di riferimento sono calcolati per fasce di età e sono riportati nella Tabella 2.

Tabella 2. Prevalenza osservata di MRSA e SA per coltura

Fascia di età	N. totale	MRSA per coltura		SA per coltura	
		N. positivi	Prevalenza osservata	N. positivi	Prevalenza osservata
0-20 anni	22	2	9,1%	7	31,8%
21-30 anni	43	8	18,6%	10	23,3%
31-40 anni	65	8	16,9%	25	38,5%
41-50 anni	124	22	17,7%	45	36,3%
51-60 anni	154	23	14,9%	48	31,8%
61-70 anni	165	15	19,1%	46	27,9%
>70 anni	219	24	11,0%	54	24,7%
Totale	792	105	13,3%	236	29,8%

15 Caratteristiche prestazionali

Il file di definizione del saggio aggiornato con algoritmi basati su regole e la versione del nuovo software GeneXpert che supporta questo aggiornamento sono stati validati tramite ripetizioni delle analisi dei dati delle prestazioni cliniche originali e un sottoinsieme di tali dati, compreso il LoD, l'inclusività, l'esclusività, le potenziali sostanze interferenti, la riproducibilità e la precisione. Le analisi ripetute hanno dimostrato che i dispositivi sono sostanzialmente equivalenti.

15.1 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del test Xpert MRSA/SA Blood Culture sono state determinate nel corso di uno studio prospettico multi-centrico, articolato presso otto presidi statunitensi, confrontando il test Xpert MRSA/SA Blood Culture con la coltura.

Tra i soggetti sono stati inclusi individui per i quali era prevista l'analisi emoculturale come trattamento di routine. Se il campione di emocoltura era risultato positivo alla colonizzazione microbica e la colorazione di Gram aveva riscontrato la presenza di cocchi Gram-positivi (singoli o in cluster), il campione risultava idoneo per essere incluso nello studio clinico, e venivano quindi ricavate aliquote di materiale colturale residuo per l'analisi con il test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Le procedure culturali e l'applicazione della colorazione di Gram, così come il trattamento del paziente, sono continuati presso i centri seguendo la prassi standard.

Il test di sensibilità è stato condotto in conformità con i documenti M2-A11 e M100-S22 del CLSI.^{12,13} Per il rilevamento della resistenza alla meticillina/oxacillina sono stati usati i risultati di diffusione ottenuti con un disco di cefoxitina.

Le prestazioni del test Xpert MRSA/SA Blood Culture sono state calcolate come percentuale di concordanza con i risultati della coltura di riferimento.

15.2 Risultati complessivi

Un totale di 792 campioni di analisi sono stati testati per MRSA e SA usando il test Xpert MRSA/SA Blood Culture e la coltura.

Rispetto al metodo di coltura di riferimento, il test Xpert MRSA/SA Blood Culture ha identificato il 98,1% dei campioni di analisi positivi all'MRSA e il 99,6% dei campioni di analisi negativi all'MRSA.

Rispetto al metodo di coltura di riferimento, il test Xpert MRSA/SA Blood Culture ha identificato il 99,6% dei campioni di analisi positivi allo SA e il 99,5% dei campioni di analisi negativi allo SA.

Le prestazioni del test Xpert MRSA/SA Blood Culture sono riepilogate nella Tabella 3.

Tabella 3. Confronto tra le prestazioni di Xpert MRSA/SA BC e la coltura di riferimento

		Coltura			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/Nessuna colonizz	Totale
Xpert	MRSA+	103	2	1	106
	SA+/MRSA-	2	128	2	132
	SA-	0	1	553	554
	Totale	105	131	556	792
Prestazioni del saggio Xpert	MRSA PPA: 98,1% (103/105, IC al 95%: 93,3-99,8) NPA: 99,6% (684/687, IC al 95%: 98,7-99,9)				
	SA PPA ^a : 99,6% (235/236, IC al 95% 97,7-99,9) NPA ^b : 99,5% (553/556, IC al 95% ^c : 98,4-99,9)				

^a Percentuale di concordanza positiva

^b Percentuale di concordanza negativa

^c Intervallo di confidenza

Il 96,1% (764/795) delle analisi eseguite sui campioni idonei con il test Xpert MRSA/SA Blood Culture è riuscito al primo tentativo. I restanti 31 test hanno dato risultati indeterminati al primo tentativo, NON VALIDO (INVALID), 22: ERRORE (ERROR) e 8: NESSUN RISULTATO (NO RESULT). Trenta dei 31 casi indeterminati sono stati analizzati nuovamente; un campione di analisi non è stato analizzato nuovamente. Ventotto dei 30 casi indeterminati che sono stati analizzati nuovamente, hanno generato risultati validi alla ripetizione del saggio. Il tasso complessivo di riuscita del saggio è stato del 99,6% (792/795),.

16 Prestazioni analitiche

16.1 Limite di rilevamento

Sono stati condotti studi per determinare le stime del punto e gli intervalli di confidenza al 95% bilaterali per il limite di rilevamento analitico (LoD) delle cellule di SA e di SA meticillino-resistente (MRSA) diluite in una matrice emoculturale negativa simulata che possono essere rilevate da parte del test Xpert MRSA/SA Blood Culture. La matrice è costituita da cellule di sangue intero privo di SA e cellule di MSSE (*Staphylococcus epidermidis* meticillino-sensibile) a 10⁶ CFU/ml aggiunte al terreno di emocoltura. 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'MRSA, sono stati analizzati 20 replicati a ogni concentrazione di MRSA (CFU/test) testata per 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), risultavano rappresentati il ceppo USA100 (il più comune tra quelli acquisiti in ambiente sanitario) e il ceppo USA400 (tra i più diffusi in ambiente comunitario).

Per l'SA, sono stati analizzati 20 replicati a ogni concentrazione di SA (CFU/test) per 3 diversi isolati di SA. Erano rappresentati i tipi statunitensi USA900 e USA1200.

Le stime del punto e gli intervalli di confidenza sono stati determinati usando la regressione probit con i dati (ovvero il numero di risultati positivi per il numero di replicati a ogni livello) in un range di carichi CFU/test. Gli intervalli di confidenza sono stati determinati usando le stime di probabilità massima dei parametri del modello probit tramite la matrice grande di varianza-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 nella Tabella 4 e nella Tabella 5.

Tabella 4. LoD e intervalli di confidenza al 95% - SA

Ceppo SA	ID PFGE	LoD confermato (CFU/test) [almeno 19/20 positivi]	Stima del LoD (analisi di regressione probit) (CFU/test)		
			IC al 95% inferiore	LoD stimato	IC al 95% superiore
102-04 ^a	USA1200	100 (19/20)	60,4	74,5	101,6
29213 ^b	Sconosciuto	150 (19/20)	120,1	138,2	172,7
N129 ^a	USA900	300 (19/20)	224,2	255,2	314,8

^a Fonte del ceppo: American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, USA

^b Fonte del ceppo: Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, GA, USA

Tabella 5. LoD e intervalli di confidenza al 95% - MRSA

ID ceppo MRSA	ID PFGE	LoD confermato (CFU/test) [almeno 19/20 positivi]	Stima del LoD (analisi di regressione probit) (CFU/test)		
			IC al 95% inferiore	LoD stimato	IC al 95% superiore
Tipo I (64/4176) ^a	USA500	350 (19/20)	332,3	366,8	433,5
Tipo II (N315) ^b	USA100 ^c	175 (19/20)	113,7	137,0	178,1
Tipo III (11373) ^b	Sconosciuto	225 (19/20)	191,9	222,6	273,9
Tipo IVa (MW2) ^b	USA400 ^c	350 (19/20)	313,1	356,1	427,0
Tipo V (ST59) ^d	USA1000 ^c	250 (19/20)	218,2	243,1	282,3
Tipo VI (HDE288) ^{ef}	USA800 ^c	250 (19/20)	222,2	246,0	385,0
Tipo VII (JCSC6082) ^a	Sconosciuto	300 (19/20)	264,1	288,0	347,1
Tipo VIII (WA MRSA-16) ^d	Sconosciuto	400 (19/20)	48,7	386,7	499,1
Tipo II (BK2464) ^b	USA100 ^g	125 (19/20)	94,3	116,1	162,0
Tipo IVd (BK2529) ^{bf}	USA500 ^g	200 (19/20)	120,8	148,8	202,5

^a Teruyo Ito, Department of Bacteriology, School of Medicine Juntendo University, Tokyo, Giappone

^b Barry Kreiswirth, Director Public Health Research Institute (PHRI), Newark, NJ, USA

^c K. Bonnstetter et al., J Clin Micro 2007, p. 141-146; L. McDougal et al., J Clin Micro 2003, p. 5113-5120

^d Geoffrey Coombs, Department of Microbiology and Infectious Diseases, Royal Perth Hospital, Perth, WA, Australia

^e Hermina de Lencastre, Laboratory of Molecular Genetics, Instituto de Tecnologia Quimica e Biologica (ITQB), Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portogallo

^f Isolati eterogenei oxacillino-resistenti

^g Barry Kreiswirth, comunicazione personale

I risultati di questo studio indicano che il test Xpert MRSA/SA Blood Culture genererà risultati positivi per SA nel 95% dei casi per le aliquote di emocolture positive (50 µl) contenenti 300 CFU e risultati positivi per MRSA nel 95% dei casi, per le aliquote di emocolture positive (50 µl) contenenti 400 CFU.

16.2 Studio di inclusività analitica (Reattività)

Duecento cinquanta (250) ceppi di SA (47 MSSA e 203 MRSA) da più fonti sono stati testati utilizzando il test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Le selezioni sono state effettuate per rappresentare i 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 MSSA, così come quelli contenenti solo MSSA. Se caratterizzati mediante elettroforesi con gel in campo pulsato (PFGE), numerosi tipi USA compreso il ceppo USA100 (il più comune tra quelli acquisiti in ambiente sanitario) e i ceppi USA300 e USA400 (tra i più diffusi in ambiente comunitario) erano anche inclusi.¹⁴ Sono stati anche testati i ceppi che rappresentavano le varianti con "cassetta vuota" e i ceppi eterogenei identificati come SA con resistenza borderline all'oxacillina (ad es., valori di MIC per oxacillina di 4-8 µg/ml) o BORSAs.

Tutti i ceppi sono stati testati in triplicato usando 10 µl di sospensione con cellule in fase stazionaria, diluita 1 milione di volte. Le unità formanti colonia per saggio (CFU/test) sono state determinate dalla conta in piastra in triplicato. Tutti i risultati sono stati rilevati correttamente dal test Xpert MRSA/SA Blood Culture, ad eccezione di un campione di analisi. Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture ha identificato incorrettamente un (1) ceppo di SA (LGA251) come MSSA invece di MRSA. Il ceppo (LGA251) contiene un nuovo gene *mecA* che rappresenta un gene *mecC* divergente che è un omologo *mecA* (ovvero *mecA*_{LGA251}) situato in un nuovo elemento *mec* del cromosoma stafilococcico, indicato come SCC *mec*type XI. I primer e le sonde *mecA* nel test MRSA/SA Blood Culture non rileveranno il gene *mecC* in questo ceppo a causa di mutazioni nelle regioni leganti il primer/sonda. Il gene *mecC* presenta differenze omologiche significative se confrontato con il gene *mecA* in altri ceppi MRSA non varianti.

16.3 Specificità analitica (esclusività)

Centouno (101) microrganismi/ceppi sono stati raccolti, quantificati e testati usando il test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Dei 101 ceppi testati, 91 colture sono state ottenute dall'ATCC (American Type Culture Collection); 1 è stata ottenuta dal CCUG (Culture Collection, University of Göteborg, Svezia); 1 è stata ottenuta da Teruyo Ito, Juntendo University, Tokyo, Giappone; 1 ceppo di *Klebsiella pneumoniae* produttore di carbapenemasi è stato ottenuto dall'NCTC (National Collection of Type Cultures, Regno Unito); e 7 ceppi sono stati ottenuti dal NARSA (Network on Antimicrobial Resistance in SA). Questi ceppi rappresentano specie filogeneticamente correlate allo SA o quelli potenzialmente presenti in ambiente ospedaliero.

I microrganismi testati sono stati identificati come Gram-positivi (74), Gram-negativi (24) o lieviti (3). Erano inclusi gli *stafilococchi* meticillino-sensibili negativi alla coagulasi, MSCoNS (27) e gli *stafilococchi* meticillino-resistenti negativi alla coagulasi, MRCoNS (12). I microrganismi sono poi stati ulteriormente classificati come aerobici (94) o anaerobici (7).

Tre replicati di ciascun isolato sono stati testati a 1,7-3,2 unità McFarland. In base alle condizioni dello studio, tutti gli isolati sono stati segnalati come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE)**; **SA NEGATIVO (SA NEGATIVE)**; nessuno degli isolati è stato rilevato dal test Xpert MRSA/SA Blood Culture. La specificità analitica è stata del 100%.

16.4 Studio sulle sostanze interferenti

Nello studio sulle sostanze interferenti sono state analizzate sostanze che possono essere presenti nelle emocolture e possono essere in grado di interferire con il test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Le sostanze potenzialmente interferenti valutate comprendono, tra l'altro, sangue intero anticoagulato con ACD, EDTA, eparina o citrato di sodio, plasma umano, tre flaconi di terreno di emocoltura (Becton Dickinson BACTEC Plus Aerobic/F, BioMérieux BacT/ALERT SA (Standard Aerobic) e TREK Diagnostics VersaTREK REDOX1 (Aerobic), bilirubina, γ -globulina, emoglobina, trigliceridi e sodio polianetolsulfonato (SPS).

Bilirubina, γ -globulina, emoglobina e trigliceridi sono stati testati a concentrazioni di circa un logaritmo più alte rispetto ai livelli di riferimento. L'SPS è stato testato ad una concentrazione 10 volte più alta rispetto a quella rilevata nei terreni di emocoltura. Sono stati testati campioni negativi (n=8) in tutte le sostanze per determinare l'effetto sulle prestazioni del controllo per il trattamento dei campioni (SPC). I campioni positivi (n=8) sono stati testati per ogni sostanza con due isolati clinici ciascuno di MSSA (29213 e 102-04) e MRSA (SCC*mec* tipi II e III) addizionati vicino al LoD analitico determinato per ciascun isolato. Tutti i risultati sono stati confrontati con i controlli dei tamponi positivi e negativi. Il test Xpert MRSA/SA Blood Culture ha segnalato correttamente come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE)**; **SA NEGATIVO (SA NEGATIVE)** tutti i campioni di analisi negativi.

Nessuna delle sostanze potenzialmente interferenti ha avuto effetti inibitori statisticamente significativi sulle prestazioni dell'SPC nei campioni negativi (valore $p = >0.05$). Tutti i campioni di analisi MSSA positivi sono stati correttamente segnalati come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE)**; **SA POSITIVO (SA POSITIVE)** utilizzando il test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Tutti i campioni di analisi MRSA positivi sono stati correttamente segnalati come **MRSA**

POSITIVO (MRSA POSITIVE); SA POSITIVO (SA POSITIVE) utilizzando il test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Nessuna delle sostanze potenzialmente interferenti ha prodotto una differenza Ct di ≥ 1 ciclo rispetto ai controlli tampone e non è stato riportato alcun risultato falso-negativo.

16.5 Studio sulla contaminazione da carry-over

È stato condotto uno studio allo scopo di dimostrare che l'impiego delle cartucce isolate ermeticamente nel contenuto 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. Questo studio consisteva nel trattamento di un campione negativo all'interno dello stesso GeneXpert subito dopo un campione positivo con valori molto elevati (6×10^7 di cellule MSSA o MRSA) nello stesso modulo del sistema GeneXpert Dx. Il processo è stato ripetuto 40 volte su 2 moduli GeneXpert. È stato analizzato un totale di 84 sessioni analitiche per ceppo (40 campioni positivi per sistema per ceppo e 44 campioni negativi per sistema per ceppo), senza che fosse riscontrata alcuna evidenza di contaminazione da carry-over. Tutti i 40 campioni MRSA positivi sono stati segnalati correttamente come **MRSA POSITIVO (MRSA POSITIVE), SA POSITIVO (SA POSITIVE)**. Tutti i 40 campioni MSSA positivi sono stati segnalati correttamente come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA POSITIVO (SA POSITIVE)**. Tutti gli 88 campioni negativi sono stati segnalati correttamente come **MRSA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE); SA NEGATIVO (SA NEGATIVE)**.

16.6 Convalida dei flaconi di emocolture

Le prestazioni del test Xpert MRSA/SA Blood Culture sono state valutate con altri sette tipi di terreni di emocoltura. I seguenti tipi di flacone sono stati valutati per MRSA e per MSSA. Vedere la Tabella 6.

Tabella 6. Flaconi di emocolture

BDBACTEC™ PEDS PLUS™/F
BDBACTEC™ Plus Anaerobic/F
BD BACTEC™ Standard Anaerobic/F
BD BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
BD BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
BacT/ALERT® SN standard anaerobico
VersaTREK™ REDOX™ 2 (anaerobico)

Campioni di emocoltura positivi sono stati creati per ciascun tipo di flacone mediante aggiunta di sangue intero umano negativo e un ceppo di MRSA e uno di MSSA individualmente per ottenere una concentrazione batterica finale di 10 CFU/ml per flacone. I flaconi di emocoltura sono stati incubati fino a quando sono risultati positivi per la crescita. Al raggiungimento della positività del flacone, un'aliquota di ciascun campione è stata testata a 1500 CFU/test in replicati di sei per ciascun tipo di flacone. Tutti i replicati positivi hanno prodotto il risultato positivo previsto per gli analiti bersaglio presenti nel campione.

Campioni di emocoltura negativa sono stati creati per ciascun tipo di flacone aggiungendo sangue intero negativo e incubando per 24 ore prima dell'analisi con il test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Tutti i replicati negativi hanno prodotto il risultato negativo previsto.

17 Riproducibilità

La riproducibilità del test Xpert MRSA/SA Blood Culture è stata valutata presso tre centri dello studio utilizzando campioni comprendenti materiale di coltura inoculato in una matrice simulata. I campioni sono stati preparati a livelli di concentrazione per rappresentare negativo alto (sotto l'LoD), positivo basso (~1X LoD) e positivo moderato (~2-3X LoD) per entrambi MRSA e MSSA. Sono stati utilizzati due diversi ceppi di MRSA. Sono stati inclusi anche i membri del pannello negativo, costituiti da *Staphylococcus epidermidis* inoculato in una matrice simulata. È stato testato un pannello di 11 campioni in cinque giorni diversi da due operatori diversi tre volte al giorno in tre centri (11 campioni x 2 operatori x 5 giorni x 3 replicati al giorno x 3 centri). Nello studio è stato incluso un lotto di reagenti Xpert MRSA/SA BC.

I test Xpert MRSA/SA Blood Culture sono stati condotti in conformità con la procedura Xpert MRSA/SA Blood Culture. Il tasso di concordanza per ciascun membro del pannello è riportato nella Tabella 7.

Tabella 7. Sommario dei risultati di riproducibilità – Concordanza per centro dello studio/strumento

Campione	Centro 1/ GX Dx	Centro 2 Inf-80	Centro 3/Inf-48	% concordanza totale
MRSA-1 neg. alto (sotto il LoD)	56,7% (17/30)	60,0% (18/30)	66,7% (20/30)	61,1% (55/90)
MRSA-1 pos. basso (~1 volta il LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA-1 pos. moder. (~2-3 volte il LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (29/29)	100,0% (89/89) ^a
MRSA-2 neg. alto (sotto il LoD)	43,3% (13/30)	53,3% (16/30)	70,0% (21/30)	55,6% (50/90)
MRSA-2 pos. basso (~1 volta il LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA-2 pos. moder. (~2-3 volte il LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MSSA neg. alto (sotto il LoD)	60,0% (18/30)	48,3% (14/29)	70,0% (21/30)	59,6% (53/89) ^b
MSSA pos. basso (~1 volta il LoD)	96,7% (29/30)	100,0% (30/30)	96,7% (29/30)	97,8% (88/90)
MSSA pos. moder. (~2-3 volte il LoD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativo-1	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativo-2	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)

^a Un campione indeterminato dopo l'analisi iniziale e la riesecuzione del test.

^b Un campione non è stato analizzato per errore.

La riproducibilità del test Xpert MRSA/SA Blood Culture è stata inoltre valutata in termini di segnale di fluorescenza espresso in valori ciclo soglia (Ct) per ciascun bersaglio rilevato. La media, la deviazione standard (DS) e il coefficiente di variazione (CV) tra i centri, tra i lotti, tra i giorni e tra le sessioni analitiche per ciascun membro del pannello sono riportati nella Tabella 8.

Tabella 8. Riepilogo dei dati di riproducibilità

Bersaglio	Campione	Conc.	Concord./ N	Concord (%)	Ct medio	Tra strumenti		Tra giorni		Tra le sessioni analitiche ^a		Entro la sessione		Totale	
						DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
spa	MRSA-1	neg. alto	55/90	61,1	35,6	0,18	0,5	0,21	0,6	0,00	0,0	0,95	2,7	0,99	2,8
	MRSA-1	pos. basso	90/90	100,0	32,8	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,62	1,9	0,67	2,1
	MRSA-1	pos. moder.	89/89	100,0	31,2	0,11	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,58	1,9	0,59	1,9
	MRSA-2	neg. alto	50/90	55,6	35,3	0,15	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,99	2,8	1,00	2,8
	MRSA-2	pos. basso	90/90	100,0	32,3	0,11	0,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,63	1,9	0,65	2,0

Bersaglio	Campione	Conc.	Concord./ N	Concord (%)	Ct medio	Tra strumenti		Tra giorni		Tra le sessioni analitiche ^a		Entro la sessione		Totale		
						DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	
	MRSA-2	pos. moder.	90/90	100,0	30,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,8	0,55	1,8	
	MSSA	neg. alto	53/89	59,6	36,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,26	3,5	1,26	3,5	
	MSSA	pos. basso	88/90	97,8	33,5	0,07	0,2	0,18	0,5	0,00	0,0	0,89	2,7	0,91	2,7	
	MSSA	pos. moder.	90/90	100,0	31,7	0,08	0,2	0,20	0,6	0,17	0,6	0,48	1,5	0,56	1,8	
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>mec</i>	MRSA-1	neg. alto	55/90	61,1	35,8	0,00	0,0	0,36	1,0	0,00	0,0	0,83	2,3	0,91	2,5	
	MRSA-1	pos. basso	90/90	100,0	33,4	0,12	0,4	0,19	0,6	0,00	0,0	0,55	1,6	0,59	1,8	
	MRSA-1	pos. moder.	89/89	100,0	31,9	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,46	1,4	0,47	1,5	
	MRSA-2	neg. alto	50/90	55,6	35,8	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	1,03	2,9	1,08	3,0	
	MRSA-2	pos. basso	90/90	100,0	32,8	0,11	0,3	0,00	0,0	0,16	0,5	0,51	1,6	0,54	1,7	
	MRSA-2	pos. moder.	90/90	100,0	31,5	0,00	0,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,49	1,5	0,51	1,6	
	MSSA	neg. alto	53/89	59,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	pos. basso	88/90	97,8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	pos. moder.	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SCC	MRSA-1	neg. alto	55/90	61,1	37,2	0,20	0,5	0,37	1,0	0,35	1,0	0,82	2,2	0,98	2,6	
	MRSA-1	pos. basso	90/90	100,0	34,5	0,19	0,5	0,23	0,7	0,00	0,0	0,59	1,7	0,66	1,9	
	MRSA-1	pos. moder.	89/89	100,0	33,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,45	1,4	0,48	1,5	
	MRSA-2	neg. alto	50/90	55,6	36,8	0,23	0,6	0,24	0,6	0,10	0,3	1,00	2,7	1,06	2,9	
	MRSA-2	pos. basso	90/90	100,0	33,7	0,11	0,3	0,00	0,0	0,26	0,8	0,57	1,7	0,64	1,9	
	MRSA-2	pos. moder.	90/90	100,0	32,4	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,45	1,4	0,46	1,4	
	MSSA	neg. alto	53/89	59,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	pos. basso	88/90	97,8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	pos. moder.	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SPC	MRSA-1	neg. alto	55/90	61,1	32,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,20	0,6	0,65	2,0	0,68	2,1	
	MRSA-1	pos. basso	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,16	0,5	0,10	0,3	0,61	1,8	0,63	1,9	

Bersaglio	Campione	Conc.	Concord./ N	Concord (%)	Ct medio	Tra strumenti		Tra giorni		Tra le sessioni analitiche ^a		Entro la sessione		Totale	
						DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
	MRSA-1	pos. moder.	89/89	100,0	33,0	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,83	2,5	0,87	2,6
	MRSA-2	neg. alto	50/90	55,6	33,1	0,23	0,7	0,00	0,0	0,10	0,3	0,85	2,6	0,89	2,7
	MRSA-2	pos. basso	90/90	100,0	32,9	0,15	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,4	0,79	2,4
	MRSA-2	pos. moder.	90/90	100,0	32,8	0,00	0,0	0,23	0,7	0,00	0,0	0,66	2,0	0,70	2,1
	MSSA	neg. alto	53/89	59,6	32,8	0,18	0,5	0,15	0,5	0,00	0,0	0,74	2,2	0,77	2,4
	MSSA	pos. basso	88/90	97,8	32,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,72	2,2	0,72	2,2
	MSSA	pos. moder.	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,31	0,9	0,00	0,0	0,69	2,1	0,76	2,3
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Concord=concordanza, Conc=concentrazione, CV=coefficiente di variazione, N/A=non applicabile per campioni negativi, DS=deviazione standard.

^a Per sessione analitica si intende l'analisi di tre campioni per membro del pannello eseguita da un operatore presso un centro in un giorno.

Nota La varianza stimata da alcuni fattori può essere numericamente negativa, caso possibile se la variabilità dovuta a questi fattori è molto piccola. In questo caso, la variabilità misurata con DS e CV è impostata su 0.

18 Studio sulla precisione dei sistemi di strumentazione

È stato eseguito uno studio in-house sulla precisione per confrontare le prestazioni dei sistemi di strumentazione GeneXpert Dx, Infinity-48 e Infinity-80 mediante l'utilizzo di campioni costituiti da materiale coltivato inoculato in una matrice simulata. I campioni sono stati preparati a livelli di concentrazione per rappresentare negativo alto (sotto l'LoD), positivo basso (~1X LoD) e positivo moderato (~2-3X LoD) per entrambi MRSA e MSSA. Sono stati utilizzati due diversi ceppi di MRSA. Sono stati inclusi anche i membri del pannello negativo, costituiti da *Staphylococcus epidermidis* inoculato in una matrice simulata. È stato testato un pannello di 11 campioni in 12 giorni diversi da due operatori diversi quattro volte al giorno per strumento (11 campioni x 2 operatori x 12 giorni x 4 replicati al giorno x 3 strumenti). Nello studio è stato incluso un lotto di reagenti Xpert MRSA/SA BC. I test Xpert MRSA/SA Blood Culture sono stati condotti in conformità con la procedura del test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Il tasso di concordanza per ciascun membro del pannello è riportato nella Tabella 9.

Tabella 9. Riepilogo dei risultati di precisione – Concordanza per strumento

Campione	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% concordanza totale
MRSA-1 neg. alto (sotto il LoD)	50,0% (48/96)	51,6% (49/95)	35,4% (34/96)	45,6% (131/287) ^a
MRSA-1 pos. basso (~1 volta il LoD)	96,9% (93/96)	99,0% (95/96)	99,0% (95/96)	98,3% (283/288)
MRSA-1 pos. moder. (~2-3 volte il LoD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	99,0% (95/96)	99,7% (287/288)
MRSA-2 neg. alto (sotto il LoD)	80,2% (77/96)	78,1% (75/96)	80,2% (77/96)	79,5% (229/288)

Campione	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% concordanza totale
MRSA-2 pos. basso (~1 volta il LoD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
MRSA-2 pos. moder. (~2-3 volte il LoD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	99,0% (95/96)	99,7% (287/288)
MSSA neg. alto (sotto il LoD)	76,0% (73/96)	71,9% (69/96)	81,3% (78/96)	76,4% (220/288)
MSSA pos. basso (~1 volta il LoD)	96,9% (93/96)	99,0% (95/96)	100,0% (96/96)	98,6% (284/288)
MSSA pos. moder. (~2-3 volte il LoD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
Negativo-1	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
Negativo-2	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)

^a Un campione è risultato indeterminato dopo l'analisi iniziale e la riesecuzione del test.

I risultati dello studio di precisione sono stati inoltre valutati in termini di segnale di fluorescenza espresso in valori Ct per ciascun bersaglio rilevato. La media, la deviazione standard (DS) e il coefficiente di variazione (CV) tra gli strumenti, tra i giorni e tra le sessioni analitiche per ciascun membro del pannello sono presentati nella Tabella 10.

Tabella 10. Riepilogo dei dati sullo studio di precisione

Bersaglio	Campione	Conc-entraz.	Conc./N	Concord (%)	Ct medio	Tra strumenti		Tra giorni		Tra le sessioni analitiche ^a		Entro la sessione		Totale	
						DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
spa	MRSA-1	neg. alto	131/287	45,6	34,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,09	3,2	1,09	3,2
	MRSA-1	pos. basso	283/288	98,3	32,9	0,02	0,1	0,16	0,5	0,00	0,0	0,78	2,4	0,80	2,4
	MRSA-1	pos. moder.	287/288	99,7	32,0	0,06	0,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,62	1,9	0,63	2,0
	MRSA-2	neg. alto	229/288	79,5	36,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	1,19	3,3	1,35	3,7
	MRSA-2	pos. basso	288/288	100,0	32,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,57	1,8	0,62	1,9
	MRSA-2	pos. moder.	287/288	99,7	31,1	0,12	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,6	0,51	1,7
	MSSA	neg. alto	220/288	76,4	36,4	0,21	0,6	0,00	0,0	0,00	0,0	1,36	3,7	1,59	4,4
	MSSA	pos. basso	284/288	98,6	33,8	0,09	0,3	0,18	0,5	0,00	0,0	0,87	2,6	0,90	2,7
	MSSA	pos. moder.	288/288	100,0	32,2	0,08	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,70	2,2	0,74	2,3
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Bersaglio	Campione	Conc-entraz.	Conc./N	Concord (%)	Ct medio	Tra strumenti		Tra giorni		Tra le sessioni analitiche ^a		Entro la sessione		Totale		
						DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	
	NEG-2	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
mec	MRSA-1	neg. alto	131/287	45,6	34,5	0,00	0,0	0,11	0,3	0,00	0,0	0,86	2,5	0,87	2,5	
	MRSA-1	pos. basso	283/288	98,3	33,4	0,07	0,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,61	1,8	0,63	1,9	
	MRSA-1	pos. moder.	287/288	99,7	32,5	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,7	0,56	1,7	
	MRSA-2	neg. alto	229/288	79,5	35,9	0,00	0,0	0,28	0,8	0,00	0,0	1,02	2,8	1,06	2,9	
	MRSA-2	pos. basso	288/288	100,0	32,8	0,06	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,5	0,53	1,6	
	MRSA-2	pos. moder.	287/288	99,7	31,5	0,14	0,5	0,05	0,2	0,00	0,0	0,45	1,4	0,47	1,5	
	MSSA	neg. alto	220/288	76,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	pos. basso	284/288	98,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	pos. moder.	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
NEG-2	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
SCC	MRSA-1	neg. alto	131/287	45,6	36,7	0,18	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,51	4,1	1,52	4,1	
	MRSA-1	pos. basso	283/288	98,3	34,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	1,11	3,2	1,13	3,2	
	MRSA-1	pos. moder.	287/288	99,7	33,7	0,12	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,3	0,78	2,3	
	MRSA-2	neg. alto	229/288	79,5	37,3	0,00	0,0	0,32	0,8	0,00	0,0	1,03	2,8	1,17	3,1	
	MRSA-2	pos. basso	288/288	100,0	34,2	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,44	1,3	0,50	1,5	
	MRSA-2	pos. moder.	287/288	99,7	33,0	0,12	0,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,49	1,5	0,50	1,5	
	MSSA	neg. alto	220/288	76,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	pos. basso	284/288	98,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	pos. moder.	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
NEG-2	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
SPC	MRSA-1	neg. alto	131/287	45,6	33,4	0,00	0,0	0,17	0,5	0,00	0,0	0,84	2,5	0,86	2,6	
	MRSA-1	pos. basso	283/288	98,3	33,4	0,10	0,3	0,21	0,6	0,00	0,0	0,77	2,3	0,80	2,4	
	MRSA-1	pos. moder.	287/288	99,7	33,4	0,08	0,2	0,15	0,5	0,00	0,0	0,72	2,2	0,74	2,2	
	MRSA-2	neg. alto	229/288	79,5	33,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,82	2,4	0,82	2,4	

Bersaglio	Campione	Conc-entraz.	Conc./N	Concord (%)	Ct medio	Tra strumenti		Tra giorni		Tra le sessioni analitiche ^a		Entro la sessione		Totale	
						DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
	MRSA-2	pos. basso	288/288	100,0	33,4	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,73	2,2	0,77	2,3
	MRSA-2	pos. moder.	287/288	99,7	33,3	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,74	2,2	0,75	2,2
	MSSA	neg. alto	220/288	76,4	33,4	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	0,83	2,5	0,85	2,6
	MSSA	pos. basso	284/288	98,6	33,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,86	2,6	0,87	2,6
	MSSA	pos. moder.	288/288	100,0	33,1	0,11	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	2,2	0,77	2,3
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	33,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,00	0,0	0,85	2,6	0,87	2,6
	NEG-2	Neg	288/288	100,0	33,5	0,00	0,0	0,02	0,1	0,00	0,0	0,84	2,5	0,84	2,5
Concord=concordanza, Conc=concentrazione, CV=coefficiente di variazione, N/A=non applicabile per campioni negativi, DS=deviazione standard.															

^a Per sessione analitica si intende l'analisi di quattro campioni per membro del pannello eseguita da un operatore presso un centro in un giorno.

Nota

La varianza stimata da alcuni fattori può essere numericamente negativa, caso possibile se la variabilità dovuta a questi fattori è molto piccola. In questo caso, la variabilità misurata con DS e CV è impostata su 0.

19 Riferimenti bibliografici

1. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollack DA, Fridkin SK. 2008. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections; annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008 Nov; 29(11):996-1011. doi: 10.1086/591861. Erratum in: *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009 Jan; 30(1):107
2. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *JAMA.* 282(19):1745-51
3. Shopsis B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases.* 7(2):323-6.
4. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. *Cleveland Clinic J Med.* 72 (3): 235-241.
5. Das I, O'Connell N, Lambert P. 2007. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. *J Hosp Infect.* 65(2): 117-123.
6. Anderson DJ *et al.* 2009. Clinical and Financial Outcomes Due to Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Surgical Site Infection: A Multi-Center Matched Outcomes Study. *PLoS ONE* 4(12): e8305. doi:10.1371/journal.pone.0008305.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (consultare l'ultima edizione). U.S. Department of Health and Human Services.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. CLSI Document M29 (consultare l'ultima edizione). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
9. Chartier Y, et al. Safe management of wastes from health care activities. *Bollettino dell'Organizzazione Mondiale della Sanità* (fare riferimento all'ultima edizione).
10. Regolamento (CE) N. 1272/2008 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le Direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.
11. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
12. CLSI M2-A11. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Eleventh Edition. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
13. CLSI M100-S22. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-second Informational Supplement, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
14. Cooper, J E, Feil, E J. 2006. The phylogeny of *Staphylococcus aureus* – which genes make the best intra-species markers? *Microbiology* 152:1297–1305.

20 Ubicazione delle sedi centrali Cepheid

Sede centrale globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sede centrale europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

21 Assistenza tecnica

Prima di contattare il supporto tecnico 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, il codice riportato sull'etichetta di servizio del computer

Stati Uniti d'America

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 Supporto Tecnico di Cepheid sono disponibili nel sito www.cepheid.com/en/support/contact-us.

22 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Marchio CE - Conformità europea
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
	Fabbricante
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per n test
	Controllo
	Data di scadenza
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Attenzione
	Rappresentante autorizzato in Svizzera
	Importatore



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



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



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



23 Cronologia delle revisioni

Sezione	Descrizione della modifica
Tabella dei simboli	Aggiunta dei simboli CH REP e Importatore e aggiunta di descrizioni nella tabella dei simboli. Aggiunta dei simboli CH REP e Informazioni sull'importatore con l'indirizzo svizzero.
Cronologia delle revisioni	Aggiornamento della tabella Cronologia delle revisioni.