

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

REF GXMRSA/SABC-CE-10

Instrucțiuni de utilizare

CE **IVD**

Declarații privind mărci comerciale, brevete și drepturi de autor

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

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2019–2023 Cepheid.

Cepheid[®], sigla Cepheid, GeneXpert[®] și Xpert[®] sunt mărci comerciale ale Cepheid, înregistrate în SUA și în alte țări.

Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi.

ACHIZIȚIA ACESTUI PRODUS TRANSMITE CUMPĂRĂTORULUI DREPTUL NETRANSFERABIL DE A-L UTILIZA ÎN CONFORMITATE CU ACESTE INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE. NICIUN FEL DE ALTE DREPTURI NU SUNT TRANSMISE ÎN MOD EXPRES, ÎN MOD IMPLICIT SAU PRIN ÎMPIEDICAREA INTENTĂRII UNEI ACȚIUNI. MAI MULT, NICIUN DREPT DE REVÂNZARE NU SE CONFERĂ ÎMPREUNĂ CU ACHIZIȚIA ACESTUI PRODUS.

© 2019–2023 Cepheid.

Consultați Secțiunea 23 pentru o descriere a modificărilor.

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

Utilizare pentru diagnosticare *in vitro*

1 Denumire brevetată

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

2 Denumire comună sau obișnuită

Xpert MRSA/SA Blood Culture

3 Utilizare preconizată

Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture Cepheid, efectuat pe sistemele instrumentului GeneXpert[®], este un test calitativ de diagnosticare *in vitro* conceput pentru detectarea rapidă și simultană a *Staphylococcus aureus* (SA) și a *Staphylococcus aureus* (MRSA) rezistent la meticilină de la pacienți cu hemoculturi pozitive. Testul utilizează reacția de polimerază în lanț automatizată în timp real (PCR) pentru a detecta ADN-ul MRSA/SA. Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture este conceput pentru a ajuta la detectarea și identificarea MRSA/SA din flacoane de hemocultură pozitive. Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture este indicat pentru utilizare împreună cu alte teste de laborator, cum ar fi cultura și datele clinice disponibile clinicianului ca ajutor în detectarea MRSA/SA din hemoculturi pozitive ale pacientului. Subcultivarea hemoculturilor pozitive este necesară pentru recuperarea organismelor pentru testarea susceptibilității sau genotiparea epidemiologică. Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture Cepheid nu este destinat pentru monitorizarea tratamentului infecțiilor cu MRSA/SA.

4 Rezumat și explicații

Staphylococcus aureus (SA) este un patogen uman, fiind agentul care cauzează o serie de boli, inclusiv bacteremie, endocardită, osteomielită, sindrom de șoc toxic, intoxicații alimentare, carbunculi și furuncule. La începutul anilor 1950, dobândirea și răspândirea plasmidelor producătoare de beta-lactamază a contracarat eficacitatea penicilinei pentru tratarea infecțiilor cu SA. În 1959, a fost introdusă meticilina, o penicilină semi-sintetică și, la scurt timp, au fost identificate tulpini de SA rezistente la meticilină (MRSA). Acum se știe că rezistența este conferită atunci când SA dobândește complexul genic *mec*, care conține gena *mecA* și potențial alte variante de *mecA*, cum ar fi *mecA*_{LGA251}, denumită *mecC*. În SUA, astăzi, MRSA este responsabil pentru aproximativ 25% din infecțiile asociate asistenței medicale, rezultând rate de morbiditate și mortalitate semnificative.

Au fost raportate rate de mortalitate semnificative imputabile bacteriilor MRSA și SA susceptibile la meticilină (MSSA). În prezent, metoda standard pentru detectarea SA, inclusiv a MRSA din flacoanele de hemocultură, este prin cultura *in vitro*. Sănătatea publică poate beneficia de o metodă rapidă și sensibilă de testare pentru SA, inclusiv MRSA.^{1,2,3,4,5,6}

5 Principiul procedurii

Sistemele instrumentului GeneXpert automatizează și integrează pregătirea probelor, purificarea și amplificarea acidului nucleic, precum și detectarea secvenței țintă din probele simple sau complexe utilizând analize PCR în timp real. Sistemele constau dintr-un instrument, un computer și software preîncărcat pentru execuția testelor și vizualizarea rezultatelor. Sistemele necesită utilizarea de cartușe de unică folosință care conțin reactivi PCR și găzduiesc procesele PCR. Deoarece cartușele sunt autonome, contaminarea încrucișată între probe este minimizată. Pentru o descriere completă a sistemului, consultați *GeneXpert Dx System Operator Manual* sau *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture include reactivi pentru detectarea MRSA și SA, precum și un control de procesare a probelor (SPC) pentru a controla procesarea adecvată a bacteriilor țintă și pentru a indica prezența inhibitorului (inhibitorilor) în reacția PCR. SPC se asigură, de asemenea, că condițiile de reacție PCR (temperatura și timpul) sunt adecvate pentru reacția de amplificare și că reactivii PCR sunt funcționali. Un control intern suplimentar, controlul verificării sondei (PCC), verifică rehidratarea reactivului, umplerea eprubetei PCR în cartuș, integritatea sondei și stabilitatea colorantului.

Amorsele și sondele din testul Xpert MRSA/SA Blood Culture detectează secvențe patentate pentru proteina stafilococică A (*spa*), gena pentru rezistența la metilicilină (*mecA*) și cromozomul casetei stafilococice *mec* (*SCCmec*), care este inserat în cromozomul SA în situsul *attB*. Țintele sunt utilizate individual sau în combinație pentru a identifica și diferenția SA și MRSA.

Pentru MRSA prezent într-un flacon de hemocultură în absența oricărei alte specii bacteriene, testul utilizează algoritmi bazați pe reguli în care valorile pragului de ciclu (Ct) ale celor trei ținte (*spa*, *mecA* și *SCCmec*) sunt comparate pentru a desemna dacă țintele sunt derivate din același organism MRSA. MRSA este considerat atunci când: 1) toate cele 3 ținte au valori Ct în intervalul valid și puncte finale peste setarea minimă, 2) în absența *SCCmec*, sunt îndeplinite condițiile algoritmului bazat pe reguli pentru valorile Ct ale *mecA* și *spa*, sau 3) în absența *spa*, condițiile algoritmului bazat pe reguli sunt îndeplinite pentru valorile Ct ale *mecA* și *SCCmec*.

6 Reactivi și instrumente

6.1 Materiale furnizate

Trusa Xpert MRSA/SA Blood Culture conține reactivi suficienți pentru procesarea a 10 specimene ale pacienților sau probe de control al calității. Trusa conține următoarele:

Cartușe Xpert MRSA/SA Blood Culture cu eprubete de reacție integrate	10
<ul style="list-style-type: none"> • Picătura 1, Picătura 2 și Picătura 3 (liofilizate) • Reactiv 1 • Reactiv 2 (hidroxid de sodiu) 	<p>1 din fiecare per cartuș</p> <p>3 ml per cartuș</p> <p>3 ml per cartuș</p> <p>10 x 2,0 ml</p>
Reactiv de eluție Xpert MRSA/SA Blood Culture (clorhidrat de guanidiniu și agenți tensioactivi)	12
Pipete de transfer de unică folosință cu volum fix (50 µl) CD	1 per trusă
<ul style="list-style-type: none"> • Fișier de definiție a analizei (ADF) • Instrucțiuni de importare a ADF în software-ul GeneXpert • Instrucțiuni de utilizare (Prospect) 	

Notă Fișele cu date de securitate (FDS) sunt disponibile la www.cepheid.com sau www.cepheidinternational.com **în fila ASISTENȚĂ (SUPPORT)**.

Notă Stabilizatorul proteic de albumină serică bovină (BSA) din picăturile din cadrul acestui produs a fost produs și fabricat exclusiv din plasma bovină provenită din Statele Unite. Nicio proteină de la animale rumegătoare sau proteină de la alt animal nu a fost oferită ca hrană animalelor; animalele au trecut testarea ante- și post-mortem. În timpul procesării, nu s-a amestecat materialul cu alte materiale de origine animală.

6.2 Depozitare și manipulare

- Depozitați cartușele și reactivii Xpert MRSA/SA Blood Culture la 2–28 °C.
- Nu utilizați reactivi sau cartușe care au depășit data de expirare.
- Nu deschideți capacul cartușului până când nu sunteți gata să efectuați testul.

6.3 Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

- Sistem GeneXpert Dx sau sistem GeneXpert Infinity (numărul de catalog variază în funcție de configurație): Instrumentul GeneXpert, computer, cititor de tip baghetă pentru coduri de bare și manual de utilizare.
 - Pentru sistemul GeneXpert Dx: Software-ul GeneXpert Dx versiunea 5.3 sau ulterioară
 - Pentru sistemele GeneXpert Infinity-80 și Infinity-48s: Versiunea software Xpertise 6.8 sau ulterioară.
- Imprimantă: Dacă este necesară o imprimantă, contactați Asistența tehnică Cepheid pentru a lua măsuri pentru achiziționarea unei imprimante recomandate.
- Mixer centrifugațional
- Pipete de transfer de unică folosință (pentru transferul probei în cartuș)

6.4 Materiale disponibile, dar care nu sunt furnizate

KWIK-STIKS™ de la Microbiologics, nr. de catalog 0158MRSA (SCCmec tipul II) și nr. de catalog 0360MSSA (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*) pot fi utilizate ca și controale pozitive externe, și nr. de catalog 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* susceptibil la metilicilină) ca și control negativ extern.

7 Avertizări și măsuri de precauție

- Utilizare pentru diagnosticare *in vitro*.
- Tratați toate speciile biologice, inclusiv cartușele utilizate, ca și cum ar putea să transmită agenți infecțioși. Deoarece este adesea imposibil să se știe care ar putea fi infecțioase, toate speciile biologice trebuie tratate cu măsuri de precauție standard. Îndrumările pentru manipularea probelor sunt disponibile de la Centrele SUA pentru Controlul și Prevenirea Bolilor⁸ și de la Institutul de Standarde Clinice și de Laborator (CLSI).⁸
- Speciile biologice, dispozitivele de transfer și cartușele utilizate trebuie să fie considerate că pot să transmită agenți infecțioși care necesită măsuri de precauție standard. Urmați procedurile instituției dumneavoastră privind eliminarea la deșeurii pentru eliminarea corespunzătoare a cartușelor utilizate și a reactivilor neutilizați. Aceste materiale pot prezenta caracteristici specifice deșeurilor chimice periculoase care necesită proceduri de eliminare naționale sau regionale specifice. În cazul în care reglementările naționale sau regionale nu oferă instrucțiuni clare privind eliminarea corespunzătoare, speciile biologice și cartușele utilizate trebuie eliminate la deșeurii conform îndrumărilor OMS [Organizația Mondială a Sănătății] privind manipularea și eliminarea deșeurilor medicale. Consultați personalul instituției dumneavoastră responsabil cu eliminarea la deșeurii pentru eliminarea corespunzătoare a cartușelor utilizate și a reactivilor neutilizați.⁹
- Urmați procedurile de siguranță ale instituției dumneavoastră pentru lucrul cu substanțe chimice și pentru manipularea probelor biologice.
- Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture nu oferă rezultate ale testelor de susceptibilitate antimicrobiană. Trebuie efectuată subcultivarea suplimentară a tuturor hemoculturilor pozitive pentru testarea susceptibilității.
- Într-o cultură mixtă care conține MRSA/SA și alte organisme (de exemplu, bacili Gram negativi, levuri), rezultatele pot fi fals negative sau variabile în funcție de concentrația de MRSA/SA prezentă, în special dacă concentrația de MRSA/SA este apropiată de limita de detecție (LoD) a testului.
- Nu înlocuiți reactivul de eluție Xpert MRSA/SA Blood Culture cu alți reactivi.
- Nu utilizați un cartuș care a fost scăpat sau scuturat.
- Nu utilizați un cartuș care are o eprubetă de reacție deteriorată.
- Nu utilizați reactivii care au devenit tulburi sau s-au decolorat.
- Nu utilizați un cartuș nou care s-a scurs. Lichidul de pe exteriorul unui cartuș uzat poate indica o problemă.
- Fiecare cartuș de unică folosință al testului Xpert MRSA/SA Blood Culture este utilizat pentru a procesa un test. Nu reutilizați cartușele utilizate.
- Următoarele medii de hemocultură pot fi utilizate în testul Xpert MRSA/SA Blood Culture:
 - Mediul BACTEC™ PEDS PLUS™/F
 - Mediul BACTEC™ Plus Aerobic/F


- Mediul BACTEC™ Plus Anaerobic/F
- Mediul BACTEC™ Standard Anaerobic/F
- Mediul BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
- Flacoane de cultură BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
- bioMérieux BacT/ALERT® SA standard aerobic
- bioMérieux BacT/ALERT® SN standard anaerobic
- VersaTREK™ REDOX™ 1R (aerobic)
- VersaTREK™ REDOX™ 2R (anaerobic)
- Mediile de hemocultură care conțin cărbune activat nu pot fi utilizate cu testul Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture trebuie utilizat numai pentru testarea flacoanelor de hemocultură care sunt pozitive pentru creșterea microbiană și care arată că colorarea Gram conține coci Gram pozitivi în grupuri (GPCC) sau coci Gram pozitivi unici (GPC).

8 Recoltarea, transportul și depozitarea speci­menelor

Notă Rezultatele hemoculturilor sunt esențiale pentru îngrijirea pacientului. Vă rugăm să urmați liniile directoare și politicile stabilite de laboratorul/instituția dvs. pentru raportarea rezultatelor pozitive ale hemoculturii (verbale, scrise sau electronice) furnizorilor de asistență medicală.

- Când rezultatul este pozitiv pentru creștere, scoateți flacoanele de hemocultură de la incubare. O colorare Gram trebuie efectuată din hemocultura pozitivă urmând procedura standard de laborator.
- Pentru flacoanele de hemocultură pozitive care prezintă coci Gram-pozitivi în grupuri (GPCC) sau coci Gram-pozitivi unici (GPC) prin colorare Gram, colectați aproximativ 1 ml de specimen de hemocultură pozitivă și etichetați cu ID-ul probei.
- Dacă specimenul va fi testat în 24 de ore, păstrați la frigider la 2-8 °C sau depozitați la temperatura camerei. Dacă specimenul va fi testat după 24 de ore, păstrați la frigider la 2-8 °C timp de până la 3 zile. Speci­menele care au fost depozitate la temperatura camerei mai mult de 24 de ore sau păstrate la frigider la 2-8 °C timp de mai mult de 3 zile nu trebuie testate cu testul Xpert MRSA/SA Blood Culture.

9 Pericole chimice^{10, 11}

- Pictograma de pericol ONU GHS: 
- Cuvânt de semnal: AVERTIZARE
- **Declarații de pericol ONU GHS**
 - Nociv în caz de înghițire
 - Provoacă iritarea pielii
 - Provoacă o iritare gravă a ochilor
- **Declarații de precauție ONU GHS**
 - **Măsuri de prevenire**
 - Spălați-vă bine după utilizare.
 - A nu mânca, bea sau fuma în timpul utilizării produsului.
 - Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței
 - **Răspuns**
 - ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: Spălați cu multă apă și săpun.
 - Scoateți îmbrăcăminte contaminată și spălați-o înainte de reutilizare.
 - Tratament specific, consultați informațiile privind măsurile suplimentare de prim ajutor.
 - În caz de iritare a pielii: Consultați medicul/solicitați asistență medicală.
 - ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă există și dacă sunt ușor de scos. Continuați să clătiți.

- Dacă iritarea ochilor persistă: Consultați medicul/solicitați asistență medicală
- ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic, dacă nu vă simțiți bine.
- Clătiți gura.
- **Depozitare/Eliminare**
 - Eliminați conținutul și/sau recipientul în conformitate cu reglementările locale, regionale, naționale și/sau internaționale.

10 Procedură

10.1 Pregătirea cartușului

Important Dacă utilizați un GeneXpert Dx System, începeți testul în decurs de 3 ore de la adăugarea probei pregătite în cartuș. Dacă utilizați un GeneXpert Infinity System, asigurați-vă că începeți testul și puneți cartușul pe transportor în decurs de 30 de minute de la adăugarea în cartuș a probei. Perioada de valabilitate rămasă este urmărită de sistem de către software-ul Xpertise, astfel încât testele să fie inițiate înainte de expirarea celor 3 ore de la încărcare.

Pentru adăugarea probei la cartuș:

1. Scoateți cartușul și reactivul de eluție din ambalaj.
2. Amestecați ușor proba de hemocultură cu mâna. Nu centrifugați.
3. Utilizând pipeta cu volum fix furnizată (50 µl), transferați conținutul pipetei cu volum fix care conține proba de hemocultură pozitivă în flaconul cu reactiv de eluție urmând pașii de mai jos:
 - a. Strângeți ferm balonul superior al pipetei.
 - b. În timp ce strângeți, așezați vârful pipetei în probă.
 - c. Cu pipeta încă în probă, eliberați presiunea de pe balon pentru a umple pipeta.
 - d. Așezați vârful pipetei peste gura flaconului cu reactiv de eluție.
 - e. Strângeți ferm balonul superior pentru a goli conținutul pipetei în flaconul cu reactiv de eluție. Este normal ca excesul de lichid să rămână în balonul de preaplin.

Notă Utilizați tifon steril pentru a manipula tamponul în vederea minimizării riscului de contaminare.

4. Închideți capacul flaconului cu reactiv de eluție și centrifugați la viteză mare timp de 10 secunde.
5. Deschideți capacul cartușului. Utilizând o pipetă de transfer (nefurnizată), transferați integral conținutul flaconului cu reactiv de eluție în compartimentul pentru probă al cartușului testului Xpert MRSA/SA Blood Culture. Consultați Figura 1.
6. Închideți capacul cartușului și începeți testul.



Figura 1. Cartușul MRSA/SA Blood Culture (vedere de sus)

10.2 Efectuarea testului

- Pentru GeneXpert Dx System, consultați Secțiunea 10.2.1.
- Pentru GeneXpert Infinity System, consultați Secțiunea 10.2.2.

10.2.1 GeneXpert Dx System Începerea testului

Înainte de a începe testul, asigurați-vă că:

- Important**
- Sistemul rulează versiunea software GeneXpert Dx adecvată, indicată în secțiunea Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate.
 - Fișierul de detectare a analizei corect este importat în software.

Această secțiune enumeră pașii de bază pentru executarea testului. Pentru instrucțiuni detaliate, consultați *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Notă Pașii de urmat pot fi diferiți în cazul în care administratorul sistemului a modificat fluxul de lucru implicit al sistemului.

1. Porniți GeneXpert Dx System, apoi porniți computerul și conectați-vă. Software-ul GeneXpert se va lansa automat. În caz contrar, faceți dublu clic pe pictograma de comandă rapidă a software-ului GeneXpert Dx pe desktopul Windows®.
2. Conectați-vă folosind numele de utilizator și parola.
3. În fereastra **Sistemul GeneXpert (GeneXpert System)**, faceți clic pe **Creare test (Create Test)**. Se afișează fereastra **Creare test (Create Test)**. Se afișează caseta de dialog **Scanare cod de bare ID pacient (Scan Patient ID barcode)**.
4. Scanați sau tastați ID-ul pacientului (Patient ID). Dacă tastați ID-ul pacientului (Patient ID), asigurați-vă că ID-ul pacientului (Patient ID) este tastat corect. ID-ul pacientului (Patient ID) este asociat cu rezultatele testului și se afișează în fereastra **Vizualizare rezultate (View Results)** și în toate rapoartele. Se afișează caseta de dialog **Scanare cod de bare ID probă (Scan Sample ID barcode)**.
5. Scanați sau tastați ID-ul probei (Sample ID). Dacă tastați ID-ul probei (Sample ID), asigurați-vă că ID-ul probei (Sample ID) este tastat corect. ID-ul probei (Sample ID) este asociat cu rezultatele testului și se afișează în fereastra **Vizualizare rezultate (View Results)** și în toate rapoartele. Se afișează caseta de dialog **Scanare cod de bare cartuș (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Scanați codul de bare al cartușului. Utilizând informațiile despre codul de bare, software-ul umple automat casetele pentru următoarele câmpuri: Selectare analiză (Select Assay), ID lot reactiv (Reagent Lot ID), Nr. serie cartuș (Cartridge SN) și Data de expirare (Expiration Date).

Notă Dacă codul de bare de pe cartuș nu se scanează, repetați testul cu un cartuș nou. Dacă ați scanat codul de bare al cartușului în software și fișierul de definiție a analizei nu este disponibil, se afișează un ecran care indică faptul că fișierul de definiție a analizei nu este încărcat în sistem. Dacă se afișează acest ecran, contactați Serviciul de asistență tehnică Cepheid.

7. Faceți clic pe **Inițiere test (Start Test)**. În caseta de dialog care se afișează, tastați parola, dacă vi se solicită.
8. Deschideți ușa modulului instrumentului cu indicatorul luminos verde care luminează intermitent și încărcați cartușul.
9. Închideți ușa. Testul începe și indicatorul luminos verde încetează să lumineze intermitent. Atunci când testul este finalizat, indicatorul luminos se stinge.
10. Așteptați până când sistemul eliberează dispozitivul de blocare a ușii înainte de a deschide ușa modulului, apoi îndepărtați cartușul.
11. Eliminați la deșeurii cartușele utilizate în recipientul corespunzător pentru deșeurii de specimene, în conformitate cu practicile standard ale instituției dumneavoastră.

Vizualizarea și tipărirea rezultatelor

Această secțiune enumeră pașii de bază pentru vizualizarea și tipărirea rezultatelor. Pentru instrucțiuni mai detaliate privind modul de vizualizare și de tipărire a rezultatelor, consultați *Manualul de utilizare a sistemului GeneXpert Dx*.

1. Faceți clic pe pictograma **Vizualizare rezultate (View Results)** pentru a vizualiza rezultatele.
2. La finalizarea testului, faceți clic pe butonul **Raport (Report)** al ferestrei **Vizualizare rezultate (View Results)** pentru a vizualiza și/sau pentru a genera un fișier de raport PDF.

10.2.2 GeneXpert Infinity System

Începerea testului

Înainte de a începe testul, asigurați-vă că:

- Important**
- Sistemul rulează versiunea software Xpertise adecvată, indicată în secțiunea Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate.
 - Fișierul de detectare a analizei corect este importat în software.

Această secțiune enumeră pașii de bază pentru executarea testului. Pentru instrucțiuni detaliate, consultați *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Notă Pașii de urmat pot fi diferiți în cazul în care administratorul sistemului a modificat fluxul de lucru implicit al sistemului.

1. Porniți instrumentul. Software-ul Xpertise se va lansa automat. În caz contrar, faceți dublu clic pe pictograma de comandă rapidă a software-ului Xpertise pe desktopul Windows®.
2. Conectați-vă la computer, apoi conectați-vă la software-ul GeneXpert Xpertise folosind numele de utilizator și parola.
3. În spațiul de lucru **Ecran de pornire software Xpertise**, faceți clic pe **Comenzi (Orders)**, iar în spațiul de lucru **Comenzi (Orders)**, faceți clic pe **Comandă test (Order Test)**.
Se afișează spațiul de lucru **Comandă test - ID pacient (Order Test - Patient ID)**.
4. Scanați sau tastați ID-ul pacientului (Patient ID). Dacă tastați ID-ul pacientului (Patient ID), asigurați-vă că ID-ul pacientului (Patient ID) este tastat corect.
ID-ul pacientului (Patient ID) este asociat cu rezultatele testului și se afișează în fereastra **Vizualizare rezultate (View Results)** și în toate rapoartele.
5. Introduceți orice informații suplimentare solicitate de instituția dvs. și faceți clic pe butonul **CONTINUARE (CONTINUE)**.
Se afișează spațiul de lucru **Comandă test - ID probă**.
6. Scanați sau tastați ID-ul probei (Sample ID). Dacă tastați ID-ul probei (Sample ID), asigurați-vă că ID-ul probei (Sample ID) este tastat corect.
ID-ul probei (Sample ID) este asociat cu rezultatele testului și se afișează în fereastra **Vizualizare rezultate (View Results)** și în toate rapoartele.
7. Faceți clic pe butonul **CONTINUARE (CONTINUE)**.
Se afișează spațiul de lucru **Comandă test - Analiză**.
8. Scanați codul de bare al cartușului. Utilizând informațiile despre codul de bare, software-ul umple automat casetele pentru următoarele câmpuri: Selectare analiză (Select Assay), ID lot reactiv (Reagent Lot ID), Nr. serie cartuș (Cartridge SN) și Data de expirare (Expiration Date).

Notă Dacă codul de bare de pe cartuș nu se scanează, repetați testul cu un cartuș nou. Dacă ați scanat codul de bare al cartușului în software și fișierul de definiție a analizei nu este disponibil, se afișează un ecran care indică faptul că fișierul de definiție a analizei nu este încărcat în sistem. Dacă se afișează acest ecran, contactați Serviciul de asistență tehnică Cepheid.

După ce cartușul este scanat, se afișează spațiul de lucru **Comandă test - Informații test (Order Test - Test Information)**.

9. Verificați dacă informațiile sunt corecte și faceți clic pe **Trimite (Submit)**. În caseta de dialog care se afișează, tastați parola, dacă vi se solicită.
10. Așezați cartușul pe banda transportoare.
Cartușul se încarcă automat, testul rulează și cartușul utilizat este introdus în recipientul pentru deșeuri.

Vizualizarea și tipărirea rezultatelor

Această secțiune enumeră pașii de bază pentru vizualizarea și tipărirea rezultatelor. Pentru instrucțiuni mai detaliate privind vizualizarea și tipărirea rezultatelor, consultați *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. În spațiul de lucru **Ecran de pornire software Xpertise (Xpertise Software Home)**, faceți clic pe pictograma **REZULTATE (RESULTS)**. Se afișează meniul Rezultate (Results).
2. În meniul Rezultate (Results), selectați butonul **VIZUALIZARE REZULTATE (VIEW RESULTS)**. Se afișează spațiul de lucru **Vizualizare rezultate (View Results)** cu rezultatele testului.
3. Faceți clic pe butonul **RAPORT (REPORT)** pentru a vizualiza și/sau pentru a genera un fișier de raport PDF.

11 Controlul calității

11.1 Controale ale calității încorporate

Fiecare test include un control al procesării probei (SPC) și un control al verificării sondei (PCC).

- **Controlul procesării probelor (SPC)** - SPC este conceput pentru a indica dacă proba a fost procesată în condițiile de operare specificate. SPC conține spori de *Bacillus globigii* sub forma unei picături uscate de spori care este inclusă în fiecare cartuș pentru a verifica procesarea adecvată a probei pentru testul Xpert MRSA/SA Blood Culture. SPC verifică dacă liza SA a avut loc în cazul în care organismele sunt prezente și verifică dacă procesarea specimenului este adecvată. În plus, acest control detectează inhibarea asociată specimenului a reacțiilor PCR în timp real și acționează ca un control pozitiv intern. Semnalul SPC trebuie să fie pozitiv într-o probă negativă și poate fi negativ sau pozitiv într-o probă pozitivă. SPC reușește dacă îndeplinește criteriile de acceptare validate. Testul este nevalid dacă SPC nu este detectat într-o probă negativă.
- **Controlul de verificare a sondei (PCC)** - Înainte de începerea reacției PCR, GeneXpert Instrument Systems măsoară semnalul de fluorescență de la sonde pentru a monitoriza rehidratarea picăturii, umplerea eprubetei de reacție, integritatea sondei și stabilitatea colorantului. Verificarea sondei reușește dacă datele satisfac criteriile de acceptare alocate.

11.2 Controale externe

Controalele externe trebuie utilizate în conformitate cu cerințele organizațiilor de acreditare locale, de stat și federale, după caz.

KWIK-STIKs (Microbiologics, nr. catalog 0158 MRSA [SCC*mec* tip II] și nr. catalog 0360 MSSA ca și controale pozitive și nr. 0371 MSSE ca și control negativ) pot fi utilizate pentru instruire și controlul calității extern al GeneXpert Instrument System. Urmați procedura de control extern Microbiologics descrisă mai jos:

1. Deschideți prin rupere punga la creștătură și scoateți KWIK-STIK.
2. Pentru a elibera fluidul de hidratare, prindeți partea de jos a ampulei în partea de sus a capacului KWIK-STIK până când auziți că ampula se rupe.
3. Țineți în poziție verticală și loviți ușor pentru a facilita fluxul de fluid prin tijă în partea de jos a unității care conține peleta.
4. Pentru a facilita dizolvarea peletei celulare liofilizate, zdrobiți peleta și amestecați în fluid folosind o acțiune de strângere. Atingeți părțile laterale ale KWIK-STIK pentru a confirma că peleta nu mai este palpabilă.
5. Desfaceți KWIK-STIK pentru a elibera tamponul și rupeți tamponul în eprubeta care conține reactivul de eluție (dop filetat).
6. Închideți capacul flaconului cu reactiv de eluție și centrifugați la viteză mare timp de 10 secunde.
7. Continuați cu etapele de testare ulterioare începând cu Pasul 5 din Secțiunea 10.1, Pregătirea cartușului.
8. În cazul în care controlul extern al calității nu reușește conform așteptărilor, repetați testul de control extern și/sau contactați Cepheid pentru asistență.

12 Interpretarea rezultatelor

GeneXpert Instrument Systems generează rezultatele din semnale fluorescente măsurate și algoritmi de calcul utilizați de software-ul GeneXpert Instrument Systems. Rezultatele pot fi vizualizate în fereastra **Vizualizare rezultate (View Results)**. Consultați Tabelul 1 și Figura 2, Figura 3, Figura 4 și Figura 5.

Pentru MRSA prezent într-un flacon de hemocultură în absența oricărei alte specii bacteriene, testul utilizează algoritmi bazați pe reguli în care valorile pragului de ciclu (Ct) ale celor trei ținte (*spa*, *mecA* și *SCCmec*) sunt comparate pentru a desemna dacă țintele sunt derivate din același organism MRSA.

Tabelul 1. Rezultatele și interpretările testului Xpert MRSA/SA Blood Culture

Rezultat	Interpretare
MRSA POZITIV/SA POZITIV (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE) (Figura 2)	<p>MRSA POZITIV/SA POZITIV (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE - Dacă apare oricare dintre următoarele condiții:</p> <ul style="list-style-type: none"> • sunt prezente toate țintele MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> și <i>SCCmec</i>), sau • <i>SCCmec</i> nu este prezent, condițiile algoritmului bazat pe reguli sunt îndeplinite pentru valorile Ct ale <i>mecA</i> și <i>spa</i>, sau • <i>spanu</i> este prezent, condițiile algoritmului bazat pe reguli sunt îndeplinite pentru valorile Ct ale <i>mecA</i> și <i>SCCmec</i>. • SPC – NA (nu este cazul) (NA (not applicable)); semnalul SPC nu face parte din interpretarea rezultatelor în acest caz, deoarece amplificarea MRSA poate concura cu acest control. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
MRSA NEGATIV/SA POZITIV (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) (Figura 3)	<p>MRSA NEGATIV/SA POZITIV (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE - Dacă apare oricare dintre următoarele condiții:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>spa</i> este prezent și <i>mecA</i> nu este prezent, sau • <i>spa</i> nu este prezent, condițiile algoritmului bazat pe reguli nu sunt îndeplinite pentru valorile Ct ale <i>mecA</i> și <i>SCCmec</i>, sau • <i>SCCmec</i> nu este prezent, condițiile algoritmului bazat pe reguli nu sunt îndeplinite pentru valorile Ct ale <i>mecA</i> și <i>spa</i>. • SPC – NA (nu este cazul) (NA (not applicable)); semnalul SPC nu face parte din interpretarea rezultatelor în acest caz, deoarece amplificarea SA poate concura cu acest control. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
MRSA NEGATIV/SA NEGATIV (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) (Figura 4)	<ul style="list-style-type: none"> • MRSA NEGATIV/SA NEGATIV (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) - Ținta SA (<i>spa</i>) nu este prezentă și dacă apare oricare dintre următoarele condiții: • <i>mecA</i> nu este prezent, sau • <i>SCCmec</i> nu este prezent, sau • Sunt prezente atât <i>mecA</i>, cât și <i>SCCmec</i>, condițiile algoritmului bazat pe reguli nu sunt îndeplinite pentru valorile Ct ale <i>mecA</i> și <i>SCCmec</i>. • SPC – REUȘITĂ (PASS); SPC are un Ct în intervalul valid și punctul final peste setarea minimă. Sau, dacă un analit țintă este pozitiv, SPC este ignorat. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
NEVALID (INVALID) (Figura 5)	<ul style="list-style-type: none"> • Prezența sau absența secvențelor țintă de MRSA/SA nu poate fi determinată, repetați testul conform instrucțiunilor din secțiunea de mai jos. SPC nu îndeplinește criteriile de acceptare, proba nu a fost procesată corespunzător sau PCR a fost inhibată. • NEVALID (INVALID) – prezența sau absența ADN-ului SA nu poate fi determinată. • SPC - NEREUȘITĂ (FAIL) – rezultatul țintă al valorii Ct a SPC este negativ, iar valoarea Ct a SPC nu se află în intervalul valid și punctul final este sub setarea minimă. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.

Rezultat	Interpretare
EROARE (ERROR)	<ul style="list-style-type: none"> Prezența sau absența secvențelor țintă de MRSA/SA nu poate fi determinată, repetați testul conform instrucțiunilor din secțiunea de mai jos. O eroare poate fi cauzată de o eprubetă de reacție umplută necorespunzător, de o problemă de integritate a sondei, de o eroare a componentelor sistemului sau de depășirea limitelor maxime de presiune. MRSA – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) SA – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) SPC – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) Verificarea sondei – NEREUȘITĂ (FAIL)*; toate sau mai multe dintre rezultatele verificării sondei au eșuat. * Dacă verificarea sondei a reușit, eroarea a fost cauzată de defecțiunea unei componente a sistemului sau de depășirea limitei maxime de presiune.
FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	<ul style="list-style-type: none"> Prezența sau absența secvențelor țintă de MRSA/SA nu poate fi determinată, repetați testul conform instrucțiunilor din secțiunea de mai jos. Au fost colectate date insuficiente pentru a genera un rezultat al testului. De exemplu, acest lucru se poate întâmpla dacă operatorul a oprit un test care era în desfășurare. MRSA – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) SA – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) SPC – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) Verificarea sondei – NA (nu este cazul) (NA (not applicable))

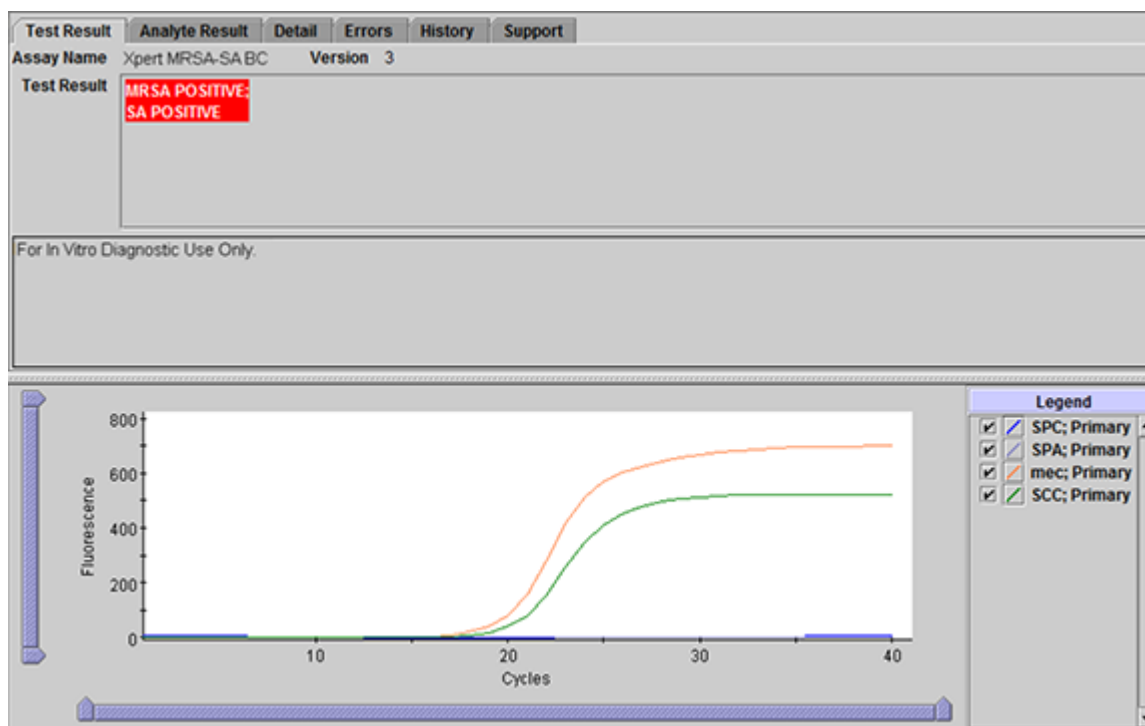


Figura 2. Un exemplu de rezultat MRSA pozitiv

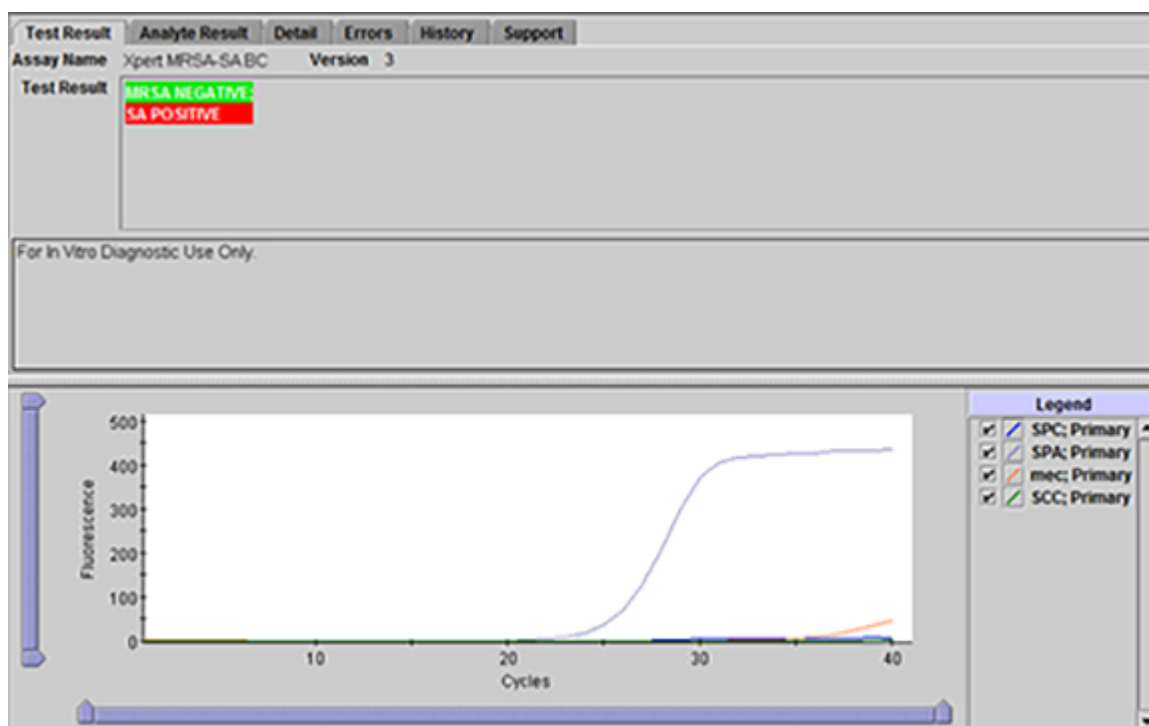


Figura 3. Un exemplu de rezultat SA pozitiv

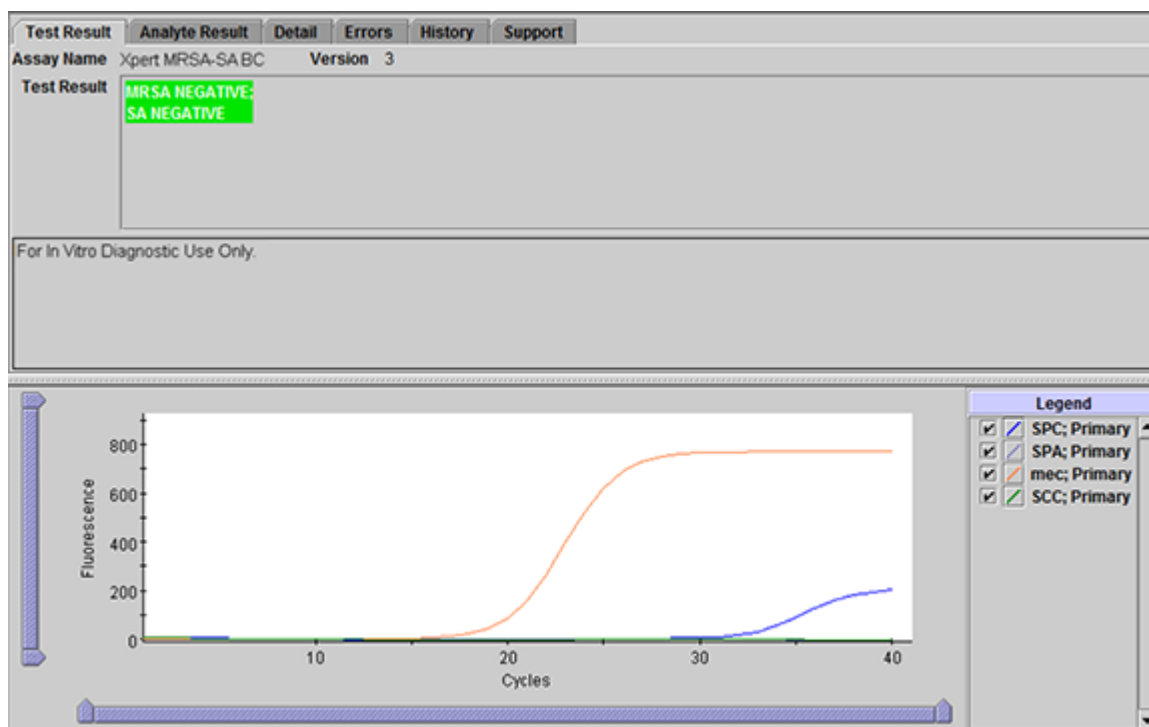


Figura 4. Un exemplu de rezultat negativ

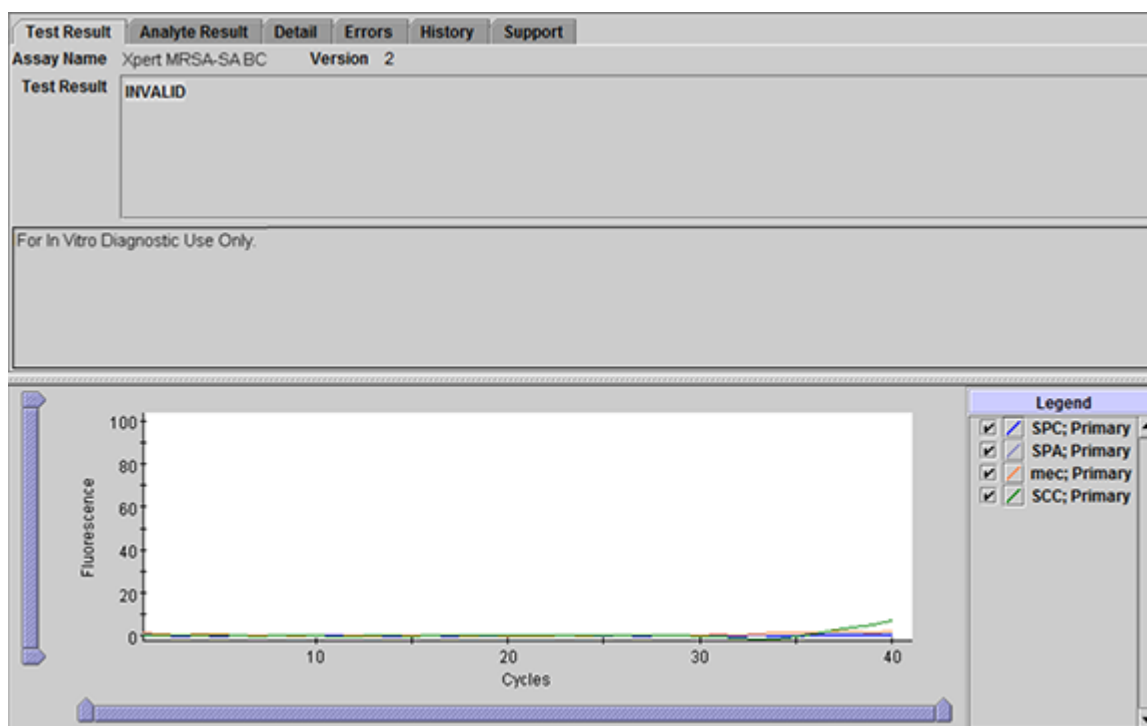


Figura 5. Un exemplu de rezultat nevalid

12.1 Motive pentru repetarea testului

Specimenul trebuie retestat dacă se obține oricare dintre următoarele rezultate la primul test.

- Un rezultat **NEVALID (INVALID)** indică faptul că SPC a eșuat. Proba nu a fost procesată corespunzător sau PCR este inhibată.
- Un rezultat **EROARE (ERROR)** indică faptul că controlul de verificare a sondei a eșuat, iar testul a fost anulat, posibil din cauza unei eprubete de reacție umplută încorect, s-a detectat o problemă de integritate a sondei cu reactiv sau au fost depășite limitele de presiune maxime.
- Un mesaj **FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)** indică faptul că au fost colectate date insuficiente. De exemplu, operatorul a oprit un test care era în desfășurare.
- În cazul în care un control extern al calității nu reușește conform așteptărilor, repetați testul de control extern și/sau contactați Cepheid pentru asistență.

12.2 Procedura de retestare

Repetăți testul folosind un cartuș nou (nu reutilizați cartușul) și un flacon cu reactiv de eluție nou.

Când utilizați un instrument GeneXpert Dx, începeți testul în decurs de 3 ore de la adăugarea probei pregătite în cartuș. Când utilizați un sistem GeneXpert Infinity, asigurați-vă că începeți testul și puneți cartușul pe transportor în decurs de 30 de minute de la adăugarea probei în cartuș. Perioada de valabilitate rămasă este urmărită de sistem de către software-ul Xpertise, astfel încât testele să fie inițiate înainte de expirarea celor 3 ore de la încărcare.

1. Scoateți cartușul și reactivul de eluție din ambalaj.
2. Amestecați ușor proba de hemocultură cu mâna. Nu centrifugați.
3. Utilizând pipeta cu volum fix furnizată (50 μ l), transferați conținutul pipetei cu volum fix care conține proba de hemocultură pozitivă în flaconul cu reactiv de eluție urmând pașii de mai jos:
 - a. Strângeți ferm balonul superior al pipetei.
 - b. În timp ce strângeți, așezați vârful pipetei în probă.
 - c. Cu pipeta încă în probă, eliberați presiunea de pe balon pentru a umple pipeta.
 - d. Așezați vârful pipetei peste gura flaconului cu reactiv de eluție.

- e. Strângeți ferm balonul superior pentru a goli conținutul pipetei în flaconul cu reactiv de eluție. Este normal ca excesul de lichid să rămână în balonul de preaplin.
4. Închideți capacul flaconului cu reactiv de eluție și centrifugați la viteză mare timp de 10 secunde.
5. Deschideți capacul cartușului. Utilizând o pipetă de transfer (nefurnizată), transferați integral conținutul flaconului cu reactiv de eluție în compartimentul pentru probă al cartușului testului Xpert MRSA/SA Blood Culture. Consultați Figura 1.
6. Închideți capacul cartușului și începeți testul.

13 Limitări

- Performanța testului Xpert MRSA/SA Blood Culture a fost validată utilizând numai procedurile furnizate în acest prospect. Modificările aduse acestor proceduri pot altera performanța testului. Rezultatele testului Xpert MRSA/SA Blood Culture trebuie interpretate împreună cu alte date de laborator și clinice disponibile clinicianului.
- Performanța testului Xpert MRSA/SA Blood Culture folosind alte tipuri de flacoane de hemocultură decât flacoanele de hemocultură 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) și VersaTREK REDOX 2 (Anaerobic) nu a fost stabilită.
- Mediile de hemocultură care conțin cărbune activat nu pot fi utilizate cu testul Xpert MRSA/SA Blood Culture (de exemplu, BacT/ALERT FAN aerobic).
- Testarea cu testul Xpert MRSA/SA Blood Culture trebuie utilizată ca un adjuvant al altor metode disponibile.
- Mutații sau polimorfisme în regiunile de legare ale amorsei sau probei pot afecta detectarea variantelor de MRSA noi sau necunoscute, ducând la un rezultat fals negativ.
- Pot apărea rezultate eronate ale testului ca urmare a colectării incorecte a speciemenelor; a nerespectării procedurilor recomandate pentru colectarea, manipularea și depozitarea probelor; a unei erori tehnice; a amestecării probelor; sau din cauză că numărul organismelor din specimen este prea mic pentru a fi detectat de test. Este necesară respectarea cu atenție a instrucțiunilor din acest prospect pentru a evita rezultatele eronate.
- Rezultatele testului Xpert MRSA/SA Blood Culture pot fi uneori NEVALID (INVALID), EROARE (ERROR) sau FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) și necesită o retestare care poate duce la o întârziere în obținerea rezultatelor finale.
- Pot fi detectate concentrații țintă sub LoD a testului, dar rezultatele pot să nu fie reproductibile.
- Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture poate genera un rezultat MRSA fals negativ atunci când se testează SA rezistent la oxacilină la limită (BORSA). Mecanismul rezistenței la oxacilină a tulpinilor de BORSA poate fi cauzat de alți factori (de exemplu, producția crescută de β-lactamază), mai degrabă decât prezența genei *mecA*. BORSA cu valori CMI ale oxacilinei de 4-8 μg/ml sunt considerate rezistente la limită, dar pot fi raportate ca MRSA negative de testul Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture poate genera un rezultat MRSA fals negativ atunci când se testează SA modificat (MOD-SA). Mecanismul rezistenței la oxacilină a tulpinilor MOD-SA este cauzat de alți factori (de exemplu, modificări ale afinității proteinelor care leagă penicilina pentru Oxacilină), mai degrabă decât prezența genei *mecA*. MOD-SA cu valori CMI ale oxacilinei de 4-8 μg/ml sunt considerate rezistente la limită, dar vor fi raportate ca MRSA negative de testul Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture generează un rezultat MRSA fals negativ atunci când se testează o tulpină care conține un omolog al *mecA* cunoscut sub numele de *mecC*, cum ar fi SA LGA251.
- Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture poate genera un rezultat MRSA fals pozitiv atunci când se testează un specimen care conține atât stafilococi coagulazo-negativi sensibili la meticilină (MRCNS), cât și *Staphylococcus aureus* susceptibil la meticilină.
- Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture poate genera un rezultat MRSA fals negativ atunci când se testează un specimen de hemocultură care conține mai multe tulpini.
- Un rezultat pozitiv al testului nu indică neapărat prezența unor organisme viabile. Cu toate acestea, este prezumtiv pentru prezența MRSA sau SA.

14 Valori preconizate

În studiul clinic privind Xpert MRSA/SA Blood Culture, au fost testate în total 792 de probe de hemocultură în 8 centre din Statele Unite. Numărul și procentul de specimene pozitive determinate prin metoda culturii de referință sunt calculate pe grupe de vârstă și prezentate în Tabelul 2.

Tabelul 2. Prevalența observată a MRSA și SA în funcție de cultură

Grupă de vârstă	N total	MRSA în funcție de cultură		SA în funcție de cultură	
		Număr pozitiv	Prevalența observată	Număr pozitiv	Prevalența observată
0-20 ani	22	2	9,1%	7	31,8%
21-30 ani	43	8	18,6%	10	23,3%
31-40 ani	65	8	16,9%	25	38,5%
41-50 ani	124	22	17,7%	45	36,3%
51-60 ani	154	23	14,9%	48	31,8%
61-70 ani	165	15	19,1%	46	27,9%
>70 ani	219	24	11,0%	54	24,7%
Total	792	105	13,3%	236	29,8%

15 Caracteristici de performanță

Fișierul de definiție a analizei actualizat cu algoritmi bazați pe reguli și lansarea noului software GeneXpert pentru a sprijini această actualizare au fost validate prin re-analize ale datelor de performanță clinică originale și ale unui subset al datelor de performanță analitică originale, inclusiv LoD, inclusivitate, exclusivitate, substanțe potențiale interferente, reproductibilitate și precizie. Re-analizele au arătat că dispozitivele sunt echivalente în mod substanțial.

15.1 Performanță clinică

Caracteristicile de performanță ale testului Xpert MRSA/SA Blood Culture au fost stabilite într-un studiu prospectiv multicentric desfășurat în 8 instituții din SUA prin compararea testului Xpert MRSA/SA Blood Culture cu cultura.

Subiecții au inclus indivizi a căror îngrijire de rutină a necesitat testarea hemoculturii. Dacă proba de hemocultură a fost pozitivă pentru creșterea microbiană și colorarea Gram a arătat coci Gram-pozitivi (unici sau în grupuri), proba a fost eligibilă pentru includere în studiul clinic și s-au obținut alicote de material de cultură rămase pentru testare cu testul Xpert MRSA/SA Blood Culture. Cultura și procedurile de colorare Gram, precum și gestionarea pacienților au continuat în centre conform practicii standard.

Testarea susceptibilității a fost efectuată în conformitate cu documentele CLSI M2-A11 și M100-S22.^{12,13} Rezultatele difuziei discului de cefoxitină au fost utilizate ca surogat pentru detectarea rezistenței la meticilină/oxacilină.

Performanța testului Xpert MRSA/SA Blood Culture a fost calculată ca acord procentual cu rezultatele culturii de referință.

15.2 Rezultate generale

În total au fost testate 792 de specimene pentru MRSA și SA cu testul Xpert MRSA/SA Blood Culture și în funcție de cultură.

Comparativ cu metoda culturii de referință, testul Xpert MRSA/SA Blood Culture a identificat 98,1% din speciamentele pozitive pentru MRSA și 99,6% din speciamentele negative pentru MRSA.

Comparativ cu metoda culturii de referință, testul Xpert MRSA/SA Blood Culture a identificat 99,6% din speciamentele pozitive pentru SA și 99,5% din speciamentele negative pentru SA.

Performanța testului Xpert MRSA/SA Blood Culture este rezumată în Tabelul 3.

Tabelul 3. Performanța testului Xpert MRSA/SA BC v. cultura de referință

		Cultură			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg./Nicio creștere	Total
Xpert	MRSA+	103	2	1	106
	SA+/MRSA-	2	128	2	132
	SA-	0	1	553	554
	Total	105	131	556	792
Performanța Xpert	MRSA	PPA: 98,1% (103/104/105, ÎI 95%: 93,3-99,8) NPA: 99,6% (684/687, ÎI 95%: 98,7-99,9)			
	SA	PPA ^a : 99,6% (235/236, ÎI 95% 97,7-99,9) NPA ^b : 99,5% (553/556, ÎI 95% ^c : 98,4-99,9)			

^a Acord procentual pozitiv

^b Acord procentual negativ

^c Interval de încredere

Dintre testele Xpert MRSA/SA Blood Culture efectuate pe specimene eligibile, 96,1% (764/795) au fost reușite la prima încercare. Restul de 31 de teste efectuate au dat rezultate nedeterminate la prima încercare . 1: NEVALID (INVALID), 22: EROARE (ERROR) și 8: FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT). 30 dintre cele 31 de cazuri nedeterminate au fost retestate; un specimen nu a fost retestat. 28 dintre cele 30 de cazuri nedeterminate care au fost retestate au generat rezultate valide la repetarea testării. Rata generală a succesului testului a fost de 99,6% (792/795).

16 Performanță analitică

16.1 Limită de detecție

S-au efectuat studii pentru a determina estimările punctului și intervalele de încredere de 95% bilaterale pentru limita analitică de detecție (LoD) a celulelor SA și a celulelor SA rezistente la metilicilină (MRSA) diluate într-o matrice de hemocultură negativă simulată care poate fi detectată de testul Xpert MRSA/SA Blood Culture. Matricea a constat din sânge integral fără SA și celule MSSE (Staphylococcus epidermidis susceptibil la metilicilină) la 10⁶ CFU/ml adăugate la mediul de hemocultură. Limita de detecție este definită ca fiind cel mai mic număr de unități formatoare de colonii (CFU) per probă care poate fi diferențiat în mod reproductibil din probele negative cu un interval de încredere de 95% sau cea mai scăzută concentrație la care 19 din 20 de replicare au fost pozitive.

Pentru MRSA, au fost evaluate 20 de replicare la fiecare concentrație de MRSA testată (CFU/tampon) pentru 10 izolate individuale reprezentând SCCmec tipurile I, II, III, IVa, IVd, V, VI, VII și VIII. Atunci când se caracterizează prin electroforeză în gel cu câmp pulsant (PFGE), au fost reprezentate USA100, cea mai comună tulpină dobândită în spital, și USA400, una dintre cele mai comune tulpini dobândite comunitar.

Pentru SA, au fost evaluate 20 de replicare la fiecare concentrație de SA (CFU/tampon) pentru 3 izolate individuale de SA. Au fost reprezentate tipurile SUA USA900 și USA1200.

Estimările punctului și intervalele de încredere au fost determinate folosind regresia logistică probit cu date (adică numărul de rezultate pozitive per număr de replicare la fiecare nivel) acoperind un interval de încărcări de CFU/test. Intervalele de încredere au fost determinate folosind estimări de maximă probabilitate pe parametrii modelului probit utilizând matricea eșantion amplă de varianță-covarianță. Estimările punctului LoD și intervalele de încredere de 95% superior și inferior pentru fiecare SA și fiecare MRSA tip SCCmec testat sunt rezumate în Tabelul 4 și Tabelul 5.

Tabelul 4. LoD și intervalele de încredere de 95% - SA

Tulpină SA	ID PFGE	LoD confirmată (UFC/test) [cel puțin 19/20 pozitive]	LoD estimată (Analiza de regresie probit) (UFC/test)		
			Î 95% inferior	Estimare LoD	Î 95% superior
102-04 ^a	USA1200	100 (19/20)	60,4	74,5	101,6
29213 ^b	necunoscut	150 (19/20)	120,1	138,2	172,7
N129 ^a	USA900	300 (19/20)	224,2	255,2	314,8

^a Sursă tulpină: Colecția americană de culturi tip (ATCC), Manassas, VA SUA

^b Sursă tulpină: Centrele pentru Controlul și Prevenția Bolilor (CDC), Atlanta, GA, SUA

Tabelul 5. LoD și intervalele de încredere de 95% - MRSA

ID tulpină MRSA	ID PFGE	LoD confirmată (UFC/test) [cel puțin 19/20 pozitive]	LoD estimată (Analiza de regresie probit) (UFC/test)		
			Î 95% inferior	Estimare LoD	Î 95% superior
Tipul I (64/4176) ^a	USA500	350 (19/20)	332,3	366,8	433,5
Tipul II (N315) ^b	USA100 ^c	175 (19/20)	113,7	137,0	178,1
Tipul III (11373) ^b	necunoscut	225 (19/20)	191,9	222,6	273,9
Tipul IVa (MW2) ^b	USA400 ^c	350 (19/20)	313,1	356,1	427,0
Tipul V (ST59) ^d	USA1000 ^c	250 (19/20)	218,2	243,1	282,3
Tipul VI (HDE288) ^{ef}	USA800 ^c	250 (19/20)	222,2	246,0	385,0
Tipul VII (JCSC6082) ^a	necunoscut	300 (19/20)	264,1	288,0	347,1
Tipul VIII (WA MRSA-16) ^d	necunoscut	400 (19/20)	348,7	386,7	499,1
Tipul II (BK2464) ^b	USA100 ^g	125 (19/20)	94,3	116,1	162,0
Tipul IVd (BK2529) ^{bf}	USA500 ^g	200 (19/20)	120,8	148,8	202,5

^a Teruyo Ito, Departamentul de Bacteriologie, School of Medicine Juntendo University, Tokyo, Japonia

^b Barry Kreiswirth, Director al Institutului de Cercetări în Sănătate Publică (PHRI), Newark, NJ, SUA

^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, Departamentul de Microbiologie și Boli Infecțioase, Royal Perth Hospital, Perth, WA

^e Hermina deLencastre, Laboratorul de genetică moleculară, Instituto de Tecnologia Quimica e Biologica (ITQB), Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portugalia

^f Izolate heterogene rezistente la oxacilină

^g Barry Kreiswirth, comunicare personală

Rezultatele acestui studiu indică faptul că testul Xpert MRSA/SA Blood Culture produce un rezultat pozitiv pentru SA 95% din timp într-o alicotă de hemocultură pozitivă (50 µl) conținând 300 CFU și un rezultat pozitiv pentru MRSA 95% din timp pentru o alicotă de hemocultură pozitivă (50 µL) conținând 400 CFU.

16.2 Studiu privind inclusivitatea analitică (reactivitate)

Au fost testate două sute cincizeci (250) de tulpini de SA (47 MSSA și 203 MRSA) din mai multe surse folosind testul Xpert MRSA/SA Blood Culture. Au fost efectuate selecții pentru a reprezenta liniile primare cu accent pe complexe clonale specifice în cadrul cărora MRSA este predominant observat. Au fost incluse linii care conțin MRSA și MSSA, precum și linii care conțin exclusiv MSSA. Atunci când se caracterizează prin electroforeză în gel cu câmp pulsant (PFGE), au fost incluse, de asemenea, numeroase tipuri de USA, inclusiv USA100, cea mai comună tulpină dobândită în spital, și USA300 și USA400, cele mai comune tulpini dobândite comunitar.¹⁴ Au fost, de asemenea, testate tulpini reprezentând variante cu „casetă goală” și tulpini eterogene identificate ca fiind SA rezistent la oxacilină la limită (de exemplu, valori CMI ale oxacilinei de 4-8 µg/ml) sau BORSA.

Toate tulpinile au fost testate în triplicat folosind 10 µl de suspensie celulară în fază staționară diluată de 1 milion de ori. Unitățile formatoare de colonii per test (CFU/test) au fost determinate prin numărarea plăcilor în triplicat. Toate rezultatele au fost raportate corect de testul Xpert MRSA/SA Blood Culture, cu excepția unui specimen. Testul Xpert MRSA/SA Blood Culture a identificat incorect o (1) tulpină de SA (LGA251) ca MSSA în loc de MRSA. LGA251 conține o genă *mecA* nouă care reprezintă un omolog al *mecA* divergent, *mecC* (adică, *mecA*_{LGA251}) localizat într-un nou element *mec* al cromozomului stafilococic, desemnat SCC *mec* tipul XI. Amorseele și sondele *mecA* din testul MRSA/SA Blood Culture nu detectează gena *mecC* din această tulpină din cauza mutațiilor din regiunile de legare a amorsei/sondei. Gena *mecC* prezintă diferențe foarte semnificative în omologie în comparație cu gena *mecA* în alte tulpini de MRSA non-variante.

16.3 Specificitate analitică (exclusivitate)

O sută unu (101) organisme/tulpini au fost colectate, cuantificate și testate folosind testul Xpert MRSA/SA Blood Culture. Dintre cele 101 tulpini testate, 91 de culturi au fost obținute din Colecția americană de culturi tip (ATCC); 1 cultură a fost obținută din Colecția de culturi, Universitatea din Göteborg, Suedia (CCUG); 1 cultură a fost obținută de la Teruyo Ito, Juntendo University, Tokyo, Japonia; 1 carbapenemază (KPC) producătoare a tulpinii *Klebsiella pneumoniae* a fost obținută din Colecția națională a culturilor tip (NCTC), Regatul Unit; și 7 tulpini au fost obținute din Rețeaua privind rezistența antimicrobiană la SA (NARSA). Aceste tulpini reprezintă specii filogenetic legate de SA sau de cele potențial întâlnite în mediul spitalicesc.

Organismele testate au fost identificate ca fiind Gram pozitive (74), Gram negative (24) sau levuri (3). Au fost incluși *stafilococi* coagulazo-negativi sensibili la meticilină, MSCoNS (27) și *stafilococi* coagulazo-negativi rezistenți la meticilină, MRCoNS (12). Organismele au fost în continuare clasificate fie ca aerobe (94), fie ca anaerobe (7).

Trei replicare ale fiecărui izolat au fost testate la 1,7-3,2 unități McFarland. În condițiile studiului, toate izolatele au fost raportate ca fiind **MRSA NEGATIVE (MRSA NEGATIVE)**; **SA NEGATIVE (SA NEGATIVE)**; niciunul dintre izolate nu a fost detectat de testul Xpert MRSA/SA Blood Culture. Specificitatea analitică a fost de 100%.

16.4 Studiu privind substanțele interferente

Substanțele care ar putea fi prezente în hemoculturi și care ar putea interfera cu testul Xpert MRSA/SA Blood Culture au fost testate în studiul privind substanțele interferente. Substanțele potențial interferente evaluate includ, dar nu se limitează la acestea, sânge integral anticoagulat cu ACD, EDTA, heparină și citrat de sodiu, plasmă umană, 3 flacoane cu medii de hemocultură (Becton Dickinson BACTEC Plus Aerobic/F, BioMérieux BacT/ALERT SA (Standard Aerobic) și TREK Diagnostics VersaTREK REDOX1 (Aerobic), bilirubină, γ-globulină, hemoglobină, trigliceride și polianetolesulfonat de sodiu (SPS).

Bilirubina, γ-globulina, hemoglobina și trigliceridele au fost testate la concentrații cu aproximativ un log mai mari decât nivelurile de referință. SPS a fost testat la o concentrație de 10 ori mai mare decât s-a găsit în mediile de hemocultură. Au fost testate probe negative (n = 8) pentru fiecare substanță pentru a determina efectul asupra performanței controlului procesării probelor (SPC). Au fost testate probe pozitive (n = 8) per substanță cu 2 izolate clinice fiecare de MSSA (29213 și 102-04) și MRSA (SCC*mec* tipurile II și III) îmbogățite aproape de LoD analitică determinată pentru fiecare izolat. Toate rezultatele au fost comparate cu controale tampon pozitive și negative. Toate speciile negative au fost raportate corect ca fiind **MRSA NEGATIVE**; **SA NEGATIVE (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)** utilizând testul Xpert MRSA/SA Blood Culture.

Niciuna dintre substanțele potențial interferente nu a avut un efect inhibitor semnificativ din punct de vedere statistic asupra performanței SPC în probele negative (valoarea $p = >0,05$). Toate speciimenele MSSA pozitive au fost raportate corect ca fiind **MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** utilizând testul Xpert MRSA/SA Blood Culture. Toate speciimenele MRSA pozitive au fost raportate corect ca fiind **MRSA POZITIVE; SA POZITIVE (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)** utilizând testul Xpert MRSA/SA Blood Culture. Niciuna dintre substanțele potențial interferente nu a dus la o diferență a valorii $Ct \geq 1$ ciclu comparativ cu controalele tampon și nu au fost raportate rezultate fals negative.

16.5 Studiu privind contaminarea prin transfer

Un studiu a fost efectuat pentru a demonstra că cartușele GeneXpert de unică folosință autonome împiedică contaminarea prin transfer a probelor negative, dacă este urmată de probe puternic pozitive în același modul GeneXpert. Acest studiu a constat dintr-o probă negativă, procesată în același modul GeneXpert, imediat după o probă puternic pozitivă (6×10^7 celule MSSA sau MRSA) în același modul al sistemului GeneXpert Dx. Aceasta a fost repetată de 40 de ori pe 2 module GeneXpert. Au fost testate în total 84 de rulări per tulpină (40 de probe pozitive per sistem per tulpină și 44 de probe negative per sistem per tulpină). Nu au existat dovezi ale vreunei contaminări prin transfer. Toate cele 40 de probe pozitive MRSA au fost raportate corect ca fiind **MRSA POZITIVE; SA POZITIVE (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)**. Toate cele 40 de probe pozitive MSSA au fost raportate corect ca fiind **MRSA NEGATIVE; SA POZITIVE (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)**. Toate cele 88 de probe negative au fost raportate corect ca fiind **MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)**.

16.6 Validarea flaconului de hemocultură

Performanța testului Xpert MRSA/SA Blood Culture a fost evaluată cu șapte tipuri suplimentare de medii de hemocultură. Următoarele tipuri de flacoane au fost evaluate atât pentru MRSA cât și pentru MSSA. Consultați Tabelul 6.

Tabelul 6. Flacoane de hemocultură

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

Au fost create probe de hemocultură pozitive pentru fiecare tip de flacon prin adăugarea de sânge uman integral negativ și a unei tulpini de MRSA și a unei tulpini de MSSA în mod individual la o concentrație bacteriană finală de 10 CFU/ml per flacon. Flacoanele de hemocultură au fost incubate până când au fost pozitive pentru creștere. La atingerea pozitivității flaconului, o porțiune din fiecare probă a fost testată la 1500 CFU/test în replicate de 6 pentru fiecare tip de flacon. Toate replicatele pozitive au dat rezultatul pozitiv așteptat pentru analiții vizați prezenți în probă.

Au fost create probe de hemocultură negative pentru fiecare tip de flacon prin adăugarea de sânge integral negativ și incubarea timp de 24 de ore înainte de testarea cu testul Xpert MRSA/SA Blood Culture. Toate replicatele negative au dat rezultatul negativ așteptat.

17 Reproducibilitate

Reproducibilitatea testului Xpert MRSA/SA Blood Culture a fost evaluată la trei centre folosind probe compuse din material de cultură îmbogățit într-o matrice simulată. Probele au fost preparate la niveluri de concentrație reprezentând un nivel puternic negativ (sub LoD), slab pozitiv (~ 1X LoD) și moderat pozitiv (~ 2-3X LoD) atât pentru MRSA, cât și pentru MSSA. Au fost utilizate două tulpini diferite de MRSA. Membrii grupului negativ au fost, de asemenea, incluși și au fost compuși din *Staphylococcus epidermidis* îmbogățit într-o matrice simulată. A fost testat un grup de 11 probe în 5 zile diferite de către 2 operatori diferiți de 3 ori pe zi, la 3 centre (11 probe x 2 operatori x 5 zile x 3 replicate pe zi x 3 centre). În studiu a fost inclus un lot de reactivi Xpert MRSA/SA BC.

Testele Xpert MRSA/SA Blood Culture au fost efectuate conform procedurii pentru Xpert MRSA/SA Blood Culture. Rata de acord pentru fiecare membru al grupului este prezentată în Tabelul 7.

**Tabelul 7. Rezumatul rezultatelor privind reproductibilitatea
- Acord după centru/instrument de studiu**

Probă	Centrul 1/ GX Dx	Centrul 2 Inf-80	Centrul 3/Inf-48	Acord procentual total
MRSA-1 puternic neg. (sub LOD)	56,7% (17/30)	60,0% (18/30)	66,7% (20/30)	61,1% (55/90)
MRSA-1 slab poz. (~ 1X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA-1 mod poz. (~ 2-3X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (29/29)	100,0% (89/89) ^a
MRSA-2 puternic neg. (sub LOD)	43,3% (13/30)	53,3% (16/30)	70,0% (21/30)	55,6% (50/90)
MRSA-2 slab poz. (~ 1X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA-2 mod poz. (~ 2-3X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MSSA puternic neg. (sub LOD)	60,0% (18/30)	48,3% (14/29)	70,0% (21/30)	59,6% (53/89) ^b
MSSA slab poz. (~ 1X LOD)	96,7% (29/30)	100,0% (30/30)	96,7% (29/30)	97,8% (88/90)
MSSA mod poz. (~ 2-3X LOD)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativ-1	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativ-2	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)

^a O probă cu rezultat nedeterminat după testarea inițială și retestare.

^b O probă nu a fost rulată din greșeală.

Reproductibilitatea testului Xpert MRSA/SA Blood Culture a fost, de asemenea, evaluată în ceea ce privește semnalul de fluorescență exprimat în valori ale pragului de ciclu (Ct) pentru fiecare țintă detectată. Media, abaterea standard (SD) și coeficientul de variație (CV) între centre, între loturi, între zile și între rulări pentru fiecare membru al grupului sunt prezentate în Tabelul 8.

Tabelul 8. Rezumatul datelor de reproductibilitate

Țintă	Probă	Conc	Acord/ N	Agmt (%)	Ct mediu	Între instrumente		Între zile		Între rulări ^a		În cadrul rulării		Total	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
spa	MRSA-1	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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

Țintă	Probă	Conc	Acord/ N	Agrmt (%)	Ct mediu	Între instrumente		Între zile		Între rulări ^a		În cadrul rulării		Total	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
	MRSA-2	puternic neg.	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	slab poz.	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
	MRSA-2	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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
	NEG-2	Neg.	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
mec	MRSA-1	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	53/89	59,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	slab poz.	88/90	97,8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	mod. poz.	90/90	100,0	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
NEG-2	Neg.	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
SCC	MRSA-1	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	53/89	59,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	slab poz.	88/90	97,8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	mod. poz.	90/90	100,0	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
NEG-2	Neg.	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
SPC	MRSA-1	puternic neg.	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

Țintă	Probă	Conc	Acord/ N	Agrmt (%)	Ct mediu	Între instrumente		Între zile		Între rulări ^a		În cadrul rulării		Total	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
	MRSA-1	slab poz.	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
	MRSA-1	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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

Agrmt = Acord, Conc = Concentrație, CV = coeficient de variație, N/A = Nu este cazul pentru probe negative, SD = abatere standard.

^a O rulare este definită ca cele 3 probe pe membru al grupului rulate de un operator la un singur centru într-o zi.

Notă

Estimarea varianței de la unii factori poate fi negativă numeric, care poate apărea dacă variabilitatea cauzată de acești factori este foarte mică. Când se întâmplă acest lucru, variabilitatea măsurată cu SD și CV este setată la 0.

18 Studiu privind precizia sistemelor instrumentelor

Un studiu intern privind precizia a fost realizat pentru a compara performanța sistemelor instrumentelor GeneXpert Dx, Infinity-48 și Infinity-80 folosind probe compuse din material de cultură îmbogățit într-o matrice simulată. Probele au fost preparate la niveluri de concentrație reprezentând un nivel puternic negativ (sub LoD), slab pozitiv (~ 1X LoD) și moderat pozitiv (~ 2-3X LoD) atât pentru MRSA, cât și pentru MSSA. Au fost utilizate două tulpini diferite de MRSA. Membrii grupului negativ au fost, de asemenea, incluși și au fost compuși din *Staphylococcus epidermidis* îmbogățit într-o matrice simulată. A fost testat un grup de 11 specimene în 12 zile diferite de către 2 operatori diferiți de 4 ori pe zi per instrument (11 specimene x 2 operatori x 12 zile x 4 replicare pe zi x 3 instrumente). În studiu a fost inclus un lot de reactivi Xpert MRSA/SA BC. Testele Xpert MRSA/SA Blood Culture au fost efectuate conform procedurii testului Xpert MRSA/SA Blood Culture. Rata de acord pentru fiecare membru al grupului este prezentată în Tabelul 9.

Tabelul 9. Rezumatul rezultatelor de precizie – Acord în funcție de instrument

Probă	GX Dx	Inf-48	Inf-80	Acord procentual total
MRSA-1 puternic neg. (sub LOD)	50,0% (48/96)	51,6% (49/95)	35,4% (34/96)	45,6% (131/287) ^a
MRSA-1 slab poz. (~ 1X LOD)	96,9% (93/96)	99,0% (95/96)	99,0% (95/96)	98,3% (283/288)
MRSA-1 mod poz. (~ 2-3X LOD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	99,0% (95/96)	99,7% (287/288)
MRSA-2 puternic neg. (sub LOD)	80,2% (77/96)	78,1% (75/96)	80,2% (77/96)	79,5% (229/288)

Probă	GX Dx	Inf-48	Inf-80	Acord procentual total
MRSA-2 slab poz. (~ 1X LOD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
MRSA-2 mod poz. (~ 2-3X LOD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	99,0% (95/96)	99,7% (287/288)
MSSA puternic neg. (sub LOD)	76,0% (73/96)	71,9% (69/96)	81,3% (78/96)	76,4% (220/288)
MSSA slab poz. (~ 1X LOD)	96,9% (93/96)	99,0% (95/96)	100,0% (96/96)	98,6% (284/288)
MSSA mod poz. (~ 2-3X LOD)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
Negativ-1	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)
Negativ-2	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (96/96)	100,0% (288/288)

^a O probă a avut un rezultat nedeterminat după testarea inițială și retestare.

Rezultatele studiului privind precizia au fost, de asemenea, evaluate în ceea ce privește semnalul de fluorescență exprimat în valori Ct pentru fiecare țintă detectată. Media, abaterea standard (SD) și coeficientul de variație (CV) între instrumente, între zile și între rulări pentru fiecare membru al grupului sunt prezentate în Tabelul 10.

Tabelul 10. Rezumatul datelor de precizie

Țintă	Probă	Conc	Acord/N	Agrmt (%)	Ct mediu	Între instrumente		Între zile		Între rulări ^a		În cadrul rulării		Total		
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	
spa	MRSA-1	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	NA
	NEG-2	Neg.	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Țintă	Probă	Conc	Acord/N	Agrmt (%)	Ct mediu	Între instrumente		Între zile		Între rulări ^a		În cadrul rulării		Total		
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	
mec	MRSA-1	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	220/288	76,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	slab poz.	284/288	98,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	220/288	76,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	slab poz.	284/288	98,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	MSSA	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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	puternic neg.	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	
	MRSA-2	slab poz.	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	

Țintă	Probă	Conc	Acord/N	Agrmt (%)	Ct mediu	Între instrumente		Între zile		Între rulări ^a		În cadrul rularii		Total	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
	MRSA-2	mod. poz.	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	puternic neg.	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	slab poz.	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	mod. poz.	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
Agrmt = Acord, Conc = Concentrație, CV = coeficient de variație, N/A = Nu este cazul pentru probe negative, SD = abatere standard.															

^a O rulare este definită ca cele 4 probe pe membru al grupului rulate de un operator la un singur centru într-o zi.

Notă

Estimarea varianței de la unii factori poate fi negativă numeric, care poate apărea dacă variabilitatea cauzată de acești factori este foarte mică. Când se întâmplă acest lucru, variabilitatea măsurată cu SD și CV este setată la 0.

19 Referințe

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. Shopsin 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 (consultați cea mai recentă ediție). U.S. Department of Health and Human Services.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document CLSI M29 (consultați cea mai recentă ediție). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
9. Chartier Y, et al. Safe management of wastes from health care activities. *Bulletin of the World Health Organization* (consultați cea mai recentă ediție).
10. Regulamentul (CE) nr. 1272/2008 al Parlamentului European și al Consiliului din 16 decembrie 2008 privind clasificarea, etichetarea și ambalarea substanțelor și a amestecurilor, de modificare și de abrogare a Directivelor 67/548/CEE și 1999/45/CE, precum și de modificare a Regulamentului (CE) nr. 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 Locațiile sediului central al Cepheid

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

21 Asistență tehnică

Înainte de a contacta Asistență tehnică Cepheid, colectați următoarele informații:

- Denumire produs
- Număr lot
- Număr de serie al instrumentului
- Mesaje de eroare (dacă există)
- Versiunea software și, dacă este cazul, numărul etichetei serviciului computerizat

Statele Unite


















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

Franța

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

Informațiile de contact pentru toate birourile de Asistență tehnică Cepheid sunt disponibile pe site-ul nostru web:
www.cepheid.com/en/support/contact-us

22 Tabel de simboluri

Simbol	Semnificație
	Număr de catalog
	Dispozitiv medical de diagnosticare <i>in vitro</i>
	A nu se reutiliza
	Cod lot
	Marcaj CE – Conformitate Europeană
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Atenție
	Producător
	Țara de fabricație
	Conține suficient pentru n teste
	Control
	Data de expirare
	Limitarea temperaturii
	Riscuri biologice
	Avertizare
	Reprezentant autorizat în Elveția
	Importator



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 Istoricul revizuirilor

Secțiunea	Descrierea modificării
Tabel de simboluri	S-au adăugat simbolurile CH REP și importator, precum și definițiile în tabelul cu simboluri. S-au adăugat informațiile pentru CH REP și importator cu adresa din Elveția.
Istoricul revizuirilor	S-a actualizat tabelul Istoricul revizuirilor.