

Xpert® Carba-R

REF GXCARBAR-CE-10
GXCARBAR-CE-120

Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

Cepheid®, logo Cepheid, GeneXpert® a Xpert® jsou ochranné známky společnosti Cepheid. Windows® je ochranná známka společnosti Microsoft Corporation.

KOUPÍ TOHOTO VÝROBKU PŘECHÁZÍ NA KUPUJÍCÍHO NEPŘENOSNÉ PRÁVO POUŽÍVAT JEJ V SOULADU S TOUTO PŘÍBALOVOU INFORMACÍ. ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA NEJSOU PŘEVÁDĚNA VÝSLOVNĚ, IMPLICITNĚ ANI ZPROSTŘEDKOVANĚ. ZAKOUPENÍM TOHOTO VÝROBKU DÁLE NEVZNIKAJÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA DALŠÍ PRODEJ.

Copyright © 2014-2023 Cepheid. Všechna práva vyhrazena.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Spojené státy americké
Telefon:
+1.408.541.4191
Fax: +1.408.541.4192



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

Xpert® Carba-R

Pro diagnostické použití *in vitro*.

1 Vlastní název

Xpert® Carba-R

2 Obecný nebo obvyklý název

Test Xpert Carba-R

3 Zamýšlené použití

Cepheid Xpert Carba-R Assay, prováděný na přístrojových systémech GeneXpert®, je kvalitativní *in vitro* diagnostický test určený k rychlé detekci a rozlišení genových sekvencí *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} a *bla*_{IMP-1} spojených s necitlivostí na karbapenemy u gramnegativních bakterií získaných ze vzorků rektálních výtěrů od pacientů při riziko střevní kolonizace bakteriemi necitlivými na karbapenemy. Test využívá automatizovanou polymerázovou řetězovou reakci (PCR) v reálném čase. Test Xpert Carba-R je určen k pomoci při detekci bakterií necitlivých na karbapenemy, které kolonizují pacienty ve zdravotnických zařízeních. Test Xpert Carba-R Assay není určen k vedení nebo monitorování léčby bakteriálních infekcí necitlivých na karbapenem. K získání organismů pro epidemiologickou typizaci, testování citlivosti na antimikrobiální látky a pro další potvrzující identifikaci bakterií necitlivých na karbapenemy jsou nezbytné souběžné kultivace.

4 Shrnutí a vysvětlení

Celosvětové šíření karbapenemázy produkujících Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter* (tj. organismů necitlivých na karbapenemy, CNSO) je kritickým problémem v oblasti medicíny a veřejného zdraví.^{1,2} Tyto bakterie jsou často rezistentní vůči všem beta-laktamovým látkám a často jsou rezistentní i vůči více třídám jiných antimikrobiálních látek, což ponechává jen velmi málo možností léčby.³ Sledování šíření CNSO je komplikováno rozmanitostí enzymů hydrolyzujících karbapenemy, které se objevily, a schopností genů šířit se mezi více bakteriálními druhy. Některé z genů rezistence, jako jsou determinanty karbapenemázy *Klebsiella pneumoniae* (KPC), jsou spojeny s úspěšnými klonálními liniemi bakterií (např. *K. pneumoniae* ST258),⁴ které mají selektivní výhodu v nemocničních zařízeních, kde je vysoké používání antimikrobiálních látek. Často se vyskytují příležitosti k přenosu organismů s dalším šířením genů rezistence prostřednictvím přenosných plazmidů a integronů. Kmen *K. pneumoniae* ST258 způsobil několik epidemií po celém světě, zejména ve Spojených státech¹ a v Izraeli.⁵ Podobně byly organismy obsahující gen kódující new Delhi metalobeta-laktamázu (NDM) zavlečeny do Evropy jedinci, kteří v mnoha případech navštívili Indii nebo Pákistán.⁶ Třetí mechanismus rezistence vůči karbapenemům, zprostředkovaný metalobeta-laktamázu zprostředkovanou Veronským integronem (VIM), je v Evropě již několik let předmětem zájmu. Další metalobeta-laktamázy, jako jsou metalobeta-laktamázy třídy imipenemázy (IMP), byly rozpoznány v Japonsku a dalších asijských zemích již před několika lety a nyní se šíří celosvětově,³ zatímco oxacilináza třídy D, OXA-48, která často zprostředkovává nízkou rezistenci ke karbapenemům, ale nikoliv rezistenci k beta-laktamázám s rozšířeným spektrem, se nyní rychle šíří v Evropě.^{7,8} V současné době je standardní metodou pro detekci pacientů, kteří jsou kolonizováni organismy necitlivými ke karbapenemům, kultivace ze vzorků rektálního nebo peri-rektálního stěru na neselektivních agarových plotnách, jako je MacConkeyho agar, s následným testováním antimikrobiální citlivosti kolonií fermentujících laktózu nebo s použitím selektivních screeningových agarových médií.⁹ První způsob je pracný a může vyžadovat několik dní k získání konečného výsledku, zatímco druhý přístup se značně liší v citlivosti a specifičnosti v závislosti na použitém selektivním médiu. Rychlá a přesná metoda pro screening pacientů na kolonizaci CNSO usnadní schopnost programů kontroly infekcí přerušit šíření CNSO v nemocnicích a dalších zdravotnických zařízeních. Vyšetření pacientů ve Spojených státech na kolonizaci CNSOs doporučuje Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) vždy, když byl v nemocnici rozpoznán kmen Enterobacteriaceae rezistentní ke karbapenemům.¹⁰ Mnoho evropských zemí, včetně Velké Británie, Francie a Nizozemska, má rovněž národní politiku, která obhájí screening pacientů na CNSO při přijetí do nemocnice, zejména pokud byli předtím hospitalizováni v cizí zemi.⁹

5 Princip postupu

Přístrojové systémy GeneXpert (GX) automatizují a integrují přípravu vzorků, extrakci a amplifikaci nukleových kyselin a detekci cílové sekvence v jednoduchých nebo složitých vzorcích pomocí testů PCR v reálném čase. Systémy se skládají z přístroje, osobního počítače a předinstalovaného softwaru pro provádění testů a zobrazování výsledků. Systémy vyžadují použití jednorázových kazet na jedno použití, v nichž jsou uložena činidla PCR a v nichž probíhá proces PCR. Protože jsou kazety samostatné, křížová kontaminace mezi vzorky je minimalizována. Úplný popis systému naleznete v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Dx* nebo v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Infinity*.

Test Xpert Carba-R Assay obsahuje činidla pro detekci genových sekvencí *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} a *bla*_{IMP-1} a také kontrolní vzorek (SPC) pro kontrolu adekvátního zpracování cílových bakterií a pro indikaci přítomnosti inhibitoru (inhibitorů) v reakci PCR. SPC také zajišťuje, aby podmínky PCR reakce (teplota a čas) byly dodrženy. Jsou vhodné pro amplifikační reakci a zda jsou PCR činidla funkční. Další interní kontrola, Probe Check Control (PCC), ověřuje rehydrataci činidla, naplnění zkumavky PCR v kazetě, integritu sondy a stabilitu barviva.

Primery a sondy v testu Xpert Carba-R detekují patentované sekvence genů *bla*_{KPC} (KPC), *bla*_{NDM} (NDM), *bla*_{VIM} (VIM), *bla*_{OXA-48} (OXA-48) a *bla*_{IMP-1} (IMP-1), které jsou spojeny s necitlivostí na karbapenemy u gramnegativních bakterií.

6 Reagencie a přístroje

6.1 Poskytnutý materiál

 Souprava Xpert Carba-R Assay obsahuje dostatečné množství činidel pro zpracování 10 vzorků. Souprava Xpert Carba-R Assay obsahuje dostatečné množství reagentů pro zpracování 120 vzorků. Sady obsahují následující:

Testovací kazety Xpert Carba-R s integrovanými reakčními zkumavkami	10 v sadě	120 v sadě
• Partikule 1, partikule 2 a partikule 3 (lyofilizované)	1 kus na kazetu	1 kus na kazety
• Reagencie 1	3,0 ml na kazetu	3,0 ml na kazetu
• Reagencie 2 (guanidiniumchlorid)	2,5 ml na kazetu	2,5 ml na kazetu
Lahvičky s reagenty pro analýzu vzorků Xpert Carba-R	10 na sadu	120 na sadu
• Reagencie pro vzorek	5,0 ml na lahvičku	5,0 ml na lahvičku
Jednorázové (1,7 ml) přenosové pipety	10 na sadu	120 na sadu
CD	1 na sadu	1 na sadu
• Soubory s definicemi analýz (ADF)		
• Pokyny pro import ADF do softwaru		
• Příbalová informace		

Poznámka Bezpečnostní listy (SDS) jsou k dispozici na adrese www.cepheid.com nebo www.cepheidinternational.com v záložce **PODPORA**.

Poznámka Hovězí sérový albumin (BSA) v kuličkách tohoto výrobku byl vyroben výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států. Zvířatům nebyly podávány žádné bílkoviny přežvýkavců ani jiné živočišné bílkoviny; zvířata prošla testováním před smrtí i po ní. Během zpracování nedošlo ke smísení materiálu s jinými živočišnými materiály.

6.2 Skladování a manipulace



• Kazety s testem Xpert Carba-R a reagentie skladujte při teplotě 2 °C až 28 °C.

• Neotvírejte kazetu, dokud nejste připraveni provést testování.



• Nepoužívejte reagentie nebo kazety s prošlou dobou expirace.

• Vzorkovací činidlo je čirá, bezbarvá kapalina. Nepoužívejte vzorkovací činidlo, pokud je zakalené nebo změnilo barvu.

• Kazetu použijte do 30 minut po otevření víka kazety.

• Nepoužívejte kazetu, která je porušená.

6.3 Požadované, ale neposkytované materiály

- GeneXpert Dx Instrument nebo GeneXpert Infinity Systems (katalogové číslo se liší podle konfigurace): Přístroj GeneXpert, počítač, snímač čárových kódů, návod k obsluze.
 - Pro systém GeneXpert Dx: GeneXpert Dx verze 4.3 nebo vyšší.
- Souprava pro odběr vzorků: Cepheid Katalogové číslo 900-0370
- Tiskárna: V případě potřeby tiskárny kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid a domluvte se na zakoupení doporučené tiskárny.
- Vortex

7 Upozornění a bezpečnostní opatření



- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet, zacházejte, jako by mohly přenášet infekční agens. Protože často není možné zjistit, které z nich mohou být infekční, mělo by se se všemi biologickými vzorky zacházet s použitím standardních bezpečnostních opatření. Pokyny pro zacházení se vzorky jsou k dispozici na stránkách amerického Centra pro kontrolu a prevenci nemocí¹¹ a Institutu pro klinické a laboratorní standardy (dříve Národní výbor pro klinické laboratorní standardy).¹²
- Dodržujte bezpečnostní postupy vaší instituce pro práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky.
- O správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagensů se poradte s pracovníky vaší instituce odpovědnými za nakládání s odpady. Zkontrolujte státní a místní předpisy, protože se mohou lišit od federálních předpisů pro likvidaci. Tento materiál může vykazovat vlastnosti nebezpečného odpadu vyžadující zvláštní požadavky na likvidaci. Instituce by si měly ověřit požadavky na likvidaci nebezpečného odpadu ve své zemi.
- Aby se zabránilo kontaminaci vzorků nebo reagensů, doporučuje se dodržovat správné laboratorní postupy, včetně výměny rukavic mezi manipulací se vzorky pacientů.
- Nenahrazujte reagensii Xpert Carba-R Assay Sample Reagent jinými reagensii.
- Víčko kazety Xpert Carba-R Assay neotvírejte, dokud nejste připraveni přidat vzorek eluovaný ze sčtu.
- Nepoužívejte kazetu, která byla upuštěna po vyjmutí z obalu.
- Kazetu netřepte. Třesení nebo upuštění kazety po otevření víka kazety může vést k neplatným výsledkům.
- Identifikační štítek vzorku neumísťujte na víko kazety ani na štítek s čárovým kódem.
- ② • Každá jednorázová kazeta Xpert Carba-R Assay slouží ke zpracování jednoho testu. Spotřebované kazety nepoužívejte opakovaně.
 - Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční trubicí.
 - Noste čisté laboratorní pláště a rukavice. Mezi zpracováním každého vzorku si vyměňte rukavice.
 - V případě kontaminace pracovního prostoru nebo zařízení vzorky nebo kontrolami důkladně vyčistěte kontaminovaný prostor roztokem bělidla na bázi chlóru pro domácnost v poměru 1:10 a poté 70% roztokem ethanolu nebo 70% roztokem isopropanolu. Před pokračováním v práci otřete pracovní plochy do sucha.
- ⚠ • Reagencie 2 obsahuje guanidiniumchlorid (H302, škodlivý při požití; H315, způsobuje podráždění kůže; a H319, způsobuje vážné podráždění očí).

8 Odběr, přeprava a skladování vzorků

1. Odeberte párový rektální tampon tak, že opatrně zavedete oba hroty tamponu přibližně 1 cm za anální svěrač a jemně jím otočíte.
2. Vložte pár tamponů zpět do původní transportní zkumavky.



3. Výtěry v transportní zkumavce lze skladovat při teplotě 15 – 28 °C po dobu až šesti hodin a poté při teplotě 2 – 28 °C po dobu sedmi dnů.
4. Rektální stěry vložené do odběrového činidla v den odběru lze skladovat při teplotě 2-28 °C po dobu až čtyř dnů.

9 Postup

9.1 Příprava kazety

Důležité Vložte kazetu do přístroje GeneXpert do 30 minut po přidání vzorku do kazety.

Přidání vzorku stěru do kazety:

1. Vyjměte kazetu a lahvičku se vzorkovacím činidlem ze soupravy.
2. Otevřete jednu lahvičku dodaného vzorkovacího činidla a vložte do ní jeden tampon.
3. Nepoužitý tampon vraťte do transportní zkumavky a uchovávejte při teplotě 2-28 °C. Viz oddíl 8.



Poznámka Stonek tamponu i vrchní část zkumavky omotejte sterilní gázou, abyste minimalizovali riziko kontaminace.

4. Držte tampon za stopku u okraje lahvičky, zvedněte tampon několik milimetrů ode dna lahvičky a ohněte stopku přes okraj lahvičky, abyste ji odlomili v místě označení, přičemž tampon zůstane dostatečně krátký, aby se vešel do lahvičky a aby se uzávěr mohl pevně uzavřít.
5. Uzavřete uzávěr vzorkovacího činidla a 10 sekund vortexujte vysokou rychlostí.
6. Otevřete víko kazety. Pomocí dodané přenosové pipety nasajte vzorkovací činidlo až po značku na pipetě (což je přibližně 1,7 ml; viz obrázek 1) a poté materiál přeneste do vzorkovací komory kazety Xpert Carba-R. Viz obrázek 2. Zbývající vzorek v lahvičce se vzorkovacím činidlem lze uchovávat při teplotě 2 - 28 °C po dobu až čtyř dnů ode dne odběru pro případ, že by bylo nutné provést opakovaný test.



Linka pro objem vzorku

Obrázek 1. Přenosová pipeta pro přenos vzorku do kazety

7. Zavřete víko kazety a vložte kazetu do přístroje GeneXpert do 30 minut.



komora pro vzorek
(velký otvor)

Obrázek 2. Kazeta s testem Xpert Carba-R (pohled shora)

9.2 Spuštění testu

Důležité

Před zahájením testu se ujistěte, že je do softwaru importován soubor s definicí testu Xpert Carba-R. V této části jsou uvedeny základní kroky spuštění testu. Podrobné pokyny naleznete v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Dx* nebo v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Infinity*.

Poznámka

Kroky, které budete provádět, se mohou lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

1. Zapněte přístrojový systém GeneXpert:
 - Pokud používáte přístroj GeneXpert Dx, nejprve zapněte přístroj a poté počítač. Software GeneXpert se spustí automaticky nebo může být nutné dvakrát kliknout na ikonu zástupce softwaru GeneXpert Dx na ploše systému Windows®.
 - nebo
 - Pokud používáte přístroj GeneXpert Infinity, zapněte jej. Software Xpertise se spustí automaticky nebo může vyžadovat dvojklik na ikonu zástupce softwaru Xpertise na ploše systému Windows.
2. Přihlaste se do softwaru GeneXpert Instrument System pomocí svého uživatelského jména a hesla.
3. V okně systému GeneXpert klikněte na tlačítko **Create test** (GeneXpert Dx) nebo na tlačítko **Order** a **Order test** (Infinity).
4. Naskenujte ID pacienta (volitelné). Pokud ID pacienta zadáváte, ujistěte se, že je ID pacienta zadáno správně. ID pacienta je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně **View Results**.
5. Naskenujte nebo zadejte ID vzorku. Pokud ID vzorku zadáváte, ujistěte se, že je ID vzorku zadáno správně. ID vzorku je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně **View Results**.
6. Naskenujte čárový kód na kazetě Xpert Carba-R Assay. Na základě informací z čárového kódu software automaticky vyplní pole pro následující položky: Vybrat analýzu, ID šarže reagentie, SN kazety a datum expirace.

Poznámka Pokud se čárový kód na kazetě Xpert Carba-R neskenuje, nastavte nový test podle postupu opakovaného testu v části 13.

7. Klikněte na tlačítko **Start Test** (GeneXpert Dx) nebo **Submit** (Infinity). Zadejte své heslo, pokud je vyžadováno.
8. U systému GeneXpert Infinity umístěte kazetu na dopravní pás. Kazeta se automaticky vloží, test proběhne a použitá kazeta se vloží do odpadní nádoby.
- nebo
- Pro přístroj GeneXpert Dx:
 - A. Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a vložte kazetu.
 - B. Zavřete dveře. Test se spustí a zelená kontrolka přestane blikat. Po dokončení testu kontrolka zhasne.
 - C. Před otevřením dveří modulu počkejte, až systém uvolní zámek dveří. Poté vyjměte kazetu.
 - D. Použité kazety by měly být zlikvidovány v příslušných kontejnerech na odpadní vzorky v souladu se standardními postupy vaší instituce.

9.3 Zobrazení a tisk výsledků

V této části jsou uvedeny základní kroky pro zobrazení a tisk výsledků. Podrobnější pokyny k prohlížení a tisku výsledků naleznete v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Dx* nebo v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Infinity*.

1. Kliknutím na ikonu **Zobrazit výsledky** zobrazíte výsledky.
2. Po dokončení testu klikněte na tlačítko **Report** v okně **View Results** (Zobrazit výsledky) a zobrazte a/nebo vygenerujte soubor zprávy PDF.

10 Kontrola kvality

CONTROL Vestavěné kontroly kvality

Každý test zahrnuje kontrolu zpracování vzorku (SPC) a kontrolu sondy (PCC).

- **Kontrola zpracování vzorku (SPC)** - zajišťuje správné zpracování vzorku. SPC obsahuje spory *Bacillus globigii* ve formě suché kuličky, která je součástí každé kazety, aby se ověřilo odpovídající zpracování vzorku. SPC ověřuje, že došlo k lýze bakterií, pokud jsou organismy přítomny, a ověřuje, že zpracování vzorku je odpovídající. Kromě toho tato kontrola zjišťuje inhibici testu PCR v reálném čase způsobenou vzorkem, zajišťuje, že podmínky reakce PCR (teplota a čas) jsou vhodné pro amplifikační reakci a že činidla PCR jsou funkční. SPC by měla být pozitivní u negativního vzorku a může být negativní nebo pozitivní u pozitivního vzorku. SPC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti.
- **Kontrola sond (PCC)** - před zahájením reakce PCR měří systém GeneXpert fluorescenční signál ze sond a sleduje rehydrataci kuliček, naplnění reakční zkumavky, integritu sond a stabilitu barviva. Kontrola sondy projde, pokud splňuje přiřazená kritéria přijatelnosti.

Externí ovládací prvky

Externí kontroly mohou být použity v souladu s místními, státními a federálními akreditačními organizacemi.

11 Interpretace výsledků

Výsledky jsou interpretovány systémem GeneXpert na základě naměřených fluorescenčních signálů a zabudovaných výpočetních algoritmů a zobrazí se v okně Zobrazit výsledky. Snímky obrazovky a interpretace všech možných kombinací výsledků s pěti cílovými analyty v testu Xpert Carba-R nejsou uvedeny; následující příklady však naznačují typ výsledků, které lze očekávat.

Poznámka Následující tabulka a obrázky ukazují pouze reprezentativní příklady typů výsledků, které lze očekávat u testu Xpert Carba-R. Nejsou uvedeny všechny možné kombinace výsledků s pěti cílovými analyty.

Tabulka 1. Reprezentativní výsledky testu Xpert Carba-R a jejich interpretace

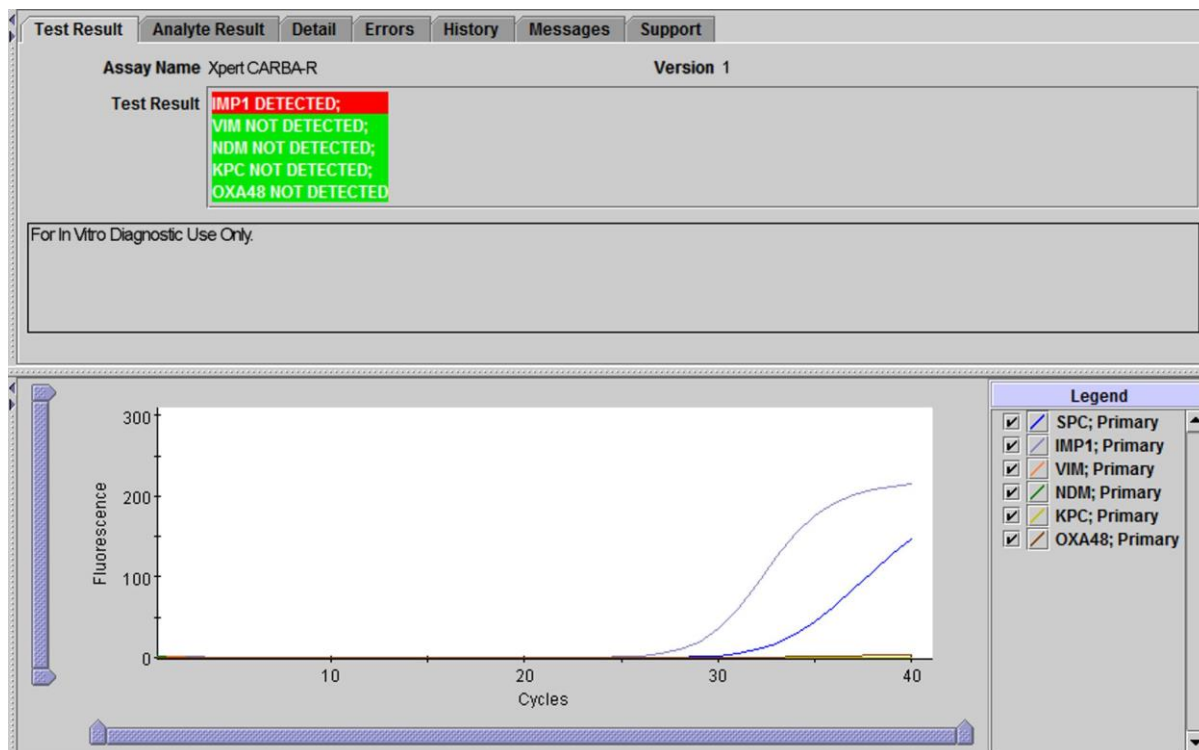
Výsledek	Výklad
IMP1 DETECTED; VIM NOT DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED Viz obrázek 3.	Je detekována cílová sekvence DNA IMP-1; cílové sekvence DNA VIM, NDM, KPC a OXA-48 nejsou detekovány. • PCR amplifikace cílové DNA IMP-1 poskytuje hodnotu Ct v platném rozmezí a konečný bod fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou; cílové DNA sekvence VIM, NDM, KPC a OXA-48 nejsou přítomny nebo jsou pod úrovní detekce testu. • SPC: Nelze aplikovat. SPC se ignoruje, protože amplifikace cílové DNA IMP-1 může s touto kontrolou soutěžit. • PCC: Všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
IMP1 NOT DETECTED; VIM DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED Viz obrázek 4.	Je detekována cílová sekvence DNA VIM; cílové sekvence DNA IMP-1, NDM, KPC a OXA-48 nejsou detekovány. • PCR amplifikace cílové DNA VIM poskytuje hodnotu Ct v platném rozmezí a konečný bod fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou; cílové sekvence DNA IMP-1, NDM, KPC a OXA-48 nejsou přítomny nebo jsou pod úrovní detekce testu. • SPC: Nelze aplikovat. SPC se ignoruje, protože amplifikace cílové DNA VIM může této kontrole konkurovat. • PCC: Všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
IMP1 NOT DETECTED; VIM DETECTED; NDM DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED Viz obrázek 5.	Cílové sekvence DNA VIM a NDM jsou detekovány; cílové sekvence DNA IMP-1, KPC a OXA-48 detekovány nejsou. • PCR amplifikace cílových DNA VIM a NDM poskytuje hodnoty Ct v platném rozmezí a konečné body fluorescence nad prahovými hodnotami; cílové DNA sekvence IMP-1, KPC a OXA-48 chybí nebo jsou pod úrovní detekce testu. • SPC: Nelze aplikovat. SPC se ignoruje, protože amplifikace cílové DNA VIM a NDM mohou této kontrole konkurovat. • PCC: Všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.

Tabulka 1. Reprezentativní výsledky testu Xpert Carba-R a jejich interpretace (pokračování)

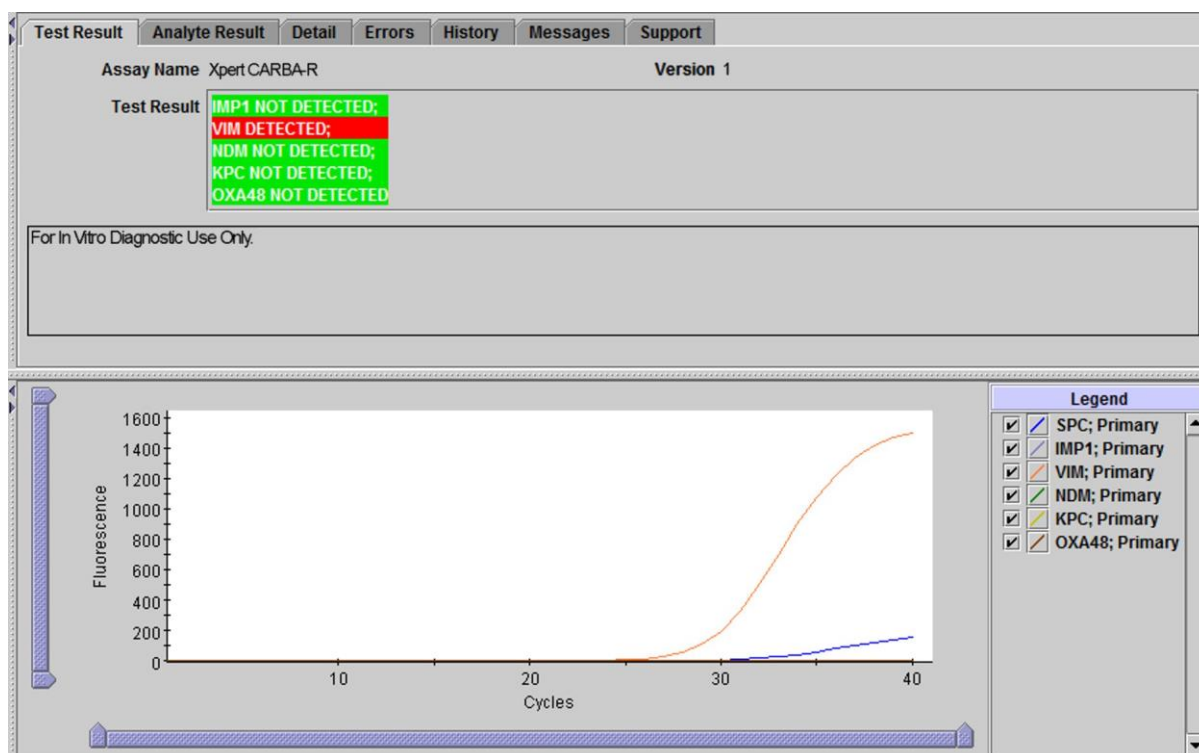
Výsledek	Výklad
IMP1 DETECTED; VIM DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED Viz obrázek 6.	Cílové sekvence DNA IMP-1 a NDM jsou detekovány; cílové sekvence DNA VIM, KPC a OXA-48 detekovány nejsou. - PCR amplifikace cílových DNA IMP-1 a NDM poskytuje hodnoty Ct v platném rozmezí a koncové body fluorescence nad prahovými hodnotami; cílové DNA sekvence VIM, KPC a OXA-48 nejsou přítomny nebo jsou pod úrovní detekce testu. - SPC: Nelze aplikovat. SPC se ignoruje, protože amplifikace cílové DNA IMP-1 a NDM mohou s touto kontrolou soutěžit. - PCC: Všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
IMP1 DETECTED; VIM DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 DETECTED Viz obrázek 7.	Cílové sekvence DNA IMP-1, VIM a OXA-48 jsou detekovány; cílové sekvence DNA NDM a KPC nejsou detekovány. - PCR amplifikace cílových DNA IMP-1, VIM a OXA-48 poskytuje hodnoty Ct v platném rozmezí a koncové body fluorescence nad prahovými hodnotami; cílové DNA sekvence KPC a NDM chybí nebo jsou pod úrovní detekce testu. - SPC: Nelze aplikovat. SPC se ignoruje, protože cílové amplifikace DNA IMP-1, VIM a OXA-48 mohou této kontrole konkurovat. - PCC: Všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
IMP1 DETECTED; VIM DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC DETECTED; OXA48 DETECTED Viz obrázek 8.	Cílové sekvence DNA IMP-1, VIM, NDM a OXA-48 jsou detekovány; cílová sekvence DNA KPC není detekována. - PCR amplifikace cílových DNA IMP-1, VIM, NDM a OXA-48 poskytuje hodnoty Ct v platném rozmezí a koncové body fluorescence nad prahovými hodnotami; cílová DNA KPC chybí nebo je pod úrovní detekce testu. - SPC: Nelze aplikovat. SPC se ignoruje, protože cílové amplifikace DNA IMP-1, VIM, NDM a OXA-48 mohou této kontrole konkurovat. - PCC: Všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
IMP1 DETECTED; VIM DETECTED; NDM DETECTED; KPC DETECTED; OXA48 DETECTED Viz obrázek 9.	Jsou detekovány cílové sekvence DNA IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48. - PCR amplifikace cílových DNA IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48 poskytuje hodnoty Ct v platném rozmezí a koncové body fluorescence nad prahovými hodnotami. - SPC: Nelze aplikovat. SPC se ignoruje, protože cílové amplifikace DNA IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48 mohou této kontrole konkurovat. - PCC: Všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
IMP1 NOT DETECTED; VIM NOT DETECTED; NDM NOT DETECTED; KPC NOT DETECTED; OXA48 NOT DETECTED	Cílové sekvence DNA IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48 nebyly detekovány. - Sekvence cílové DNA IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48 chybí nebo jsou pod úrovní detekce testu. - SPC: PCR amplifikace sekvence DNA SPC poskytuje hodnotu Ct v platném rozmezí a konečný bod fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou. - PCC: Všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
INVALID Viz obrázek 11.	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí DNA IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48 nelze určit. Pro opakování testu použijte pokyny uvedené v části 13, Postup opakování testu. - SPC: Ct není v platném rozmezí a koncový bod fluorescence je pod prahovou hodnotou. - PCC: Všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
ERROR	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí DNA IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48 nelze určit. Pro opakování testu použijte pokyny uvedené v části 13, Postup opakování testu. - SPC: NO RESULT - PCC: FAIL*; jeden nebo více výsledků kontroly sondy selhaly. PCC pravděpodobně selhala, protože reakční zkušavka byla nesprávně naplněna nebo byl zjištěn problém s integritou sondy. * Pokud kontrola sondy proběhla úspěšně, je chyba způsobena selháním systémové komponenty.

Tabulka 1. Reprezentativní výsledky testu Xpert Carba-R a jejich interpretace (pokračování)

Výsledek	Výklad
NO RESULT	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí DNA IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48 nelze určit. Pro opakování testu použijte pokyny uvedené v části 13, Postup opakování testu. K získání výsledku testu nebyl shromážděn dostatek údajů (například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení). • SPC: NO RESULT • PCC: nelze aplikovat

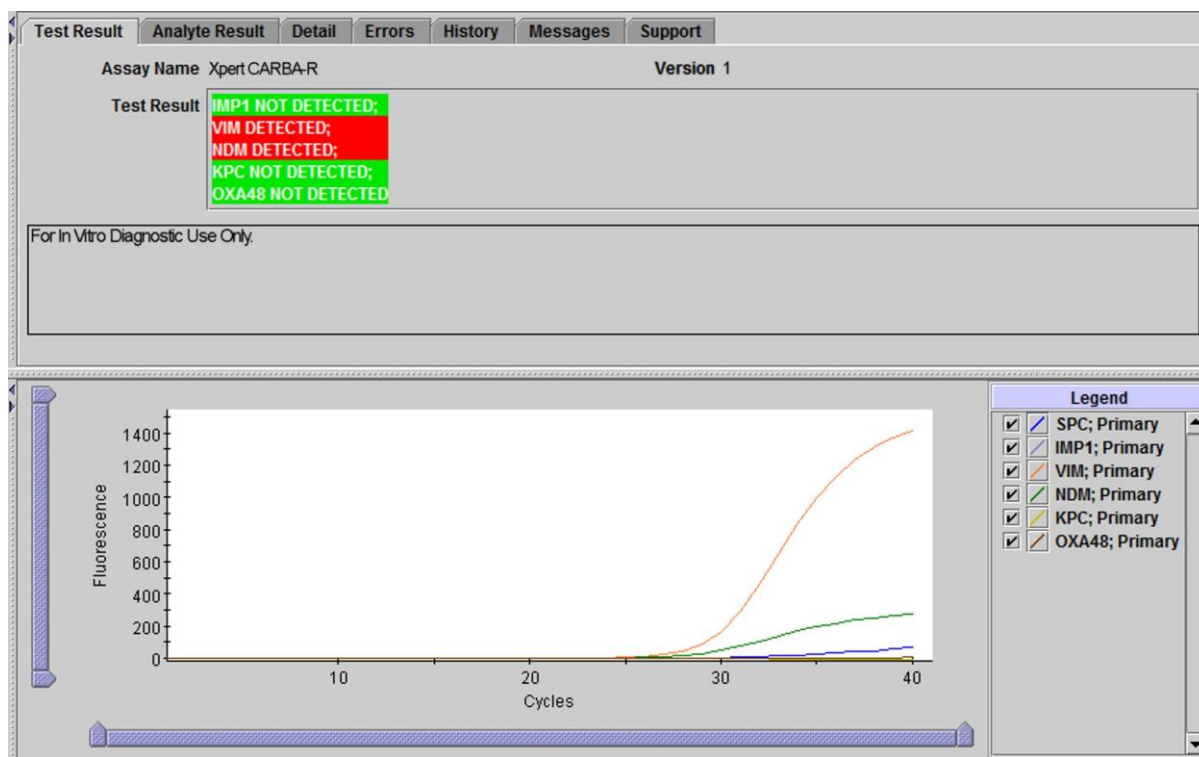


Obrázek 3. Detekce testu Carba-R-IMP-1

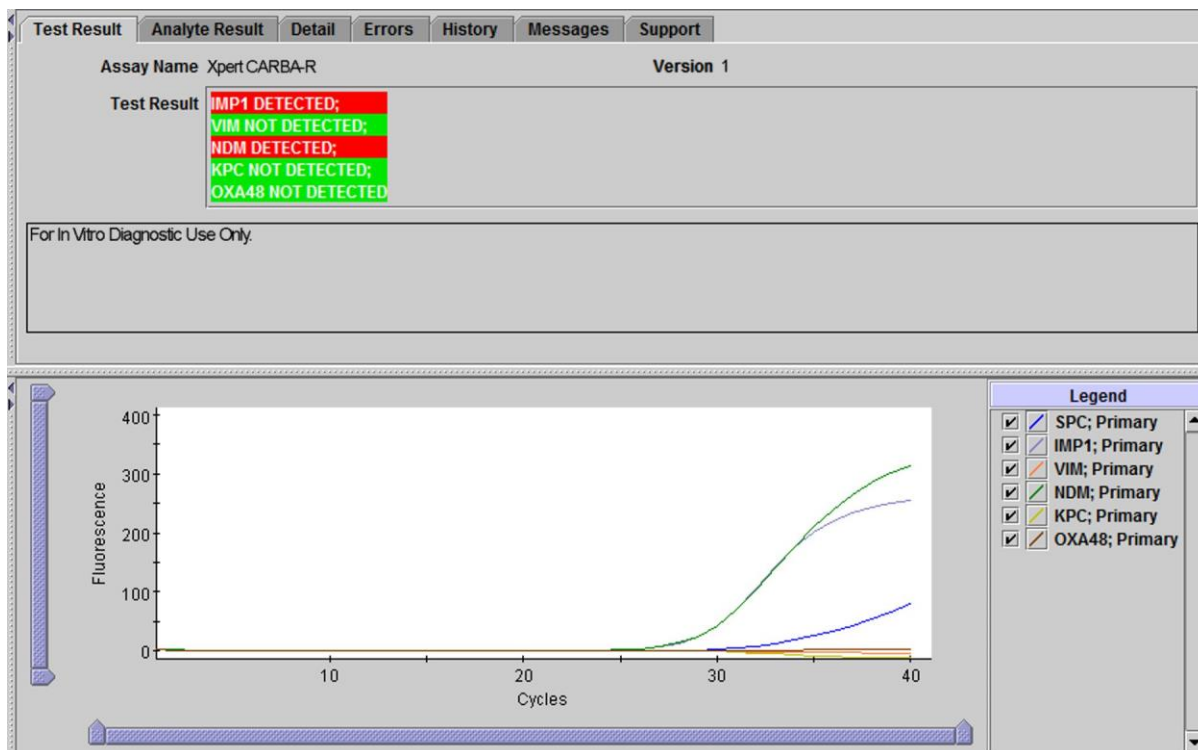


Obrázek 4. Detekce testu Carba-R-VIM

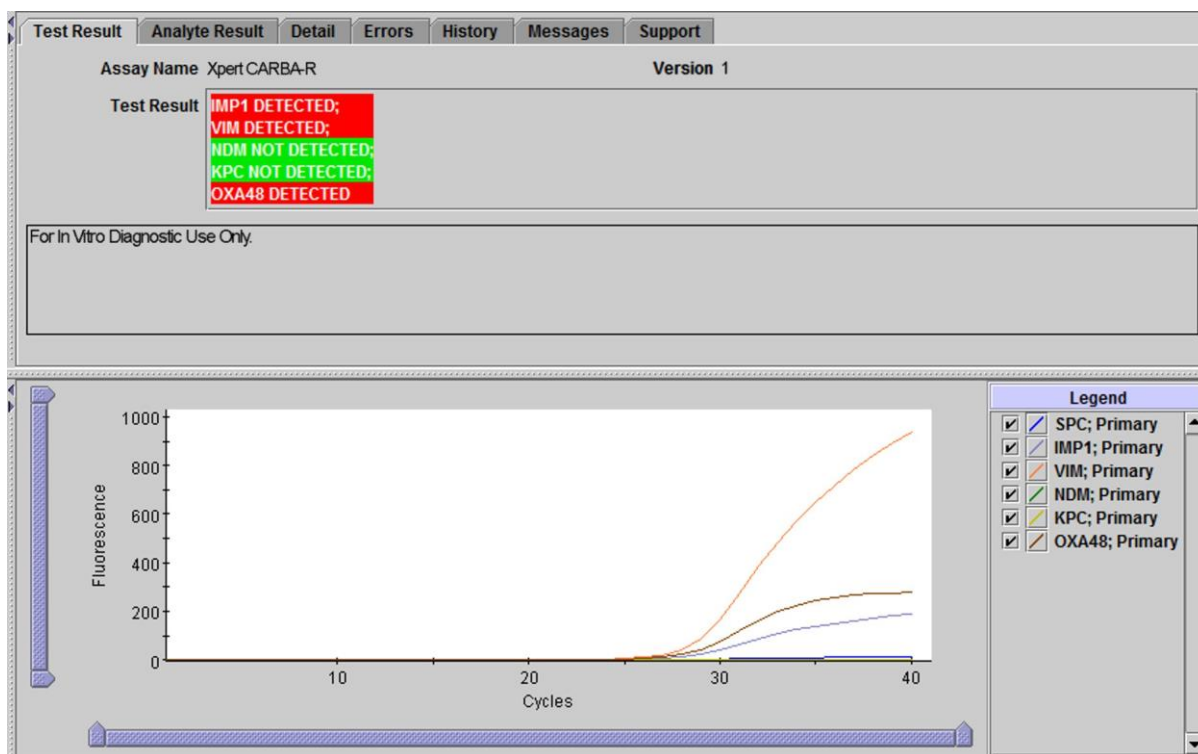
Poznámka Příklady NDM pozitivních, KPC pozitivních a OXA pozitivních vzorků nejsou zobrazeny.



Obrázek 5. Test Carba-R - detekce VIM a NDM



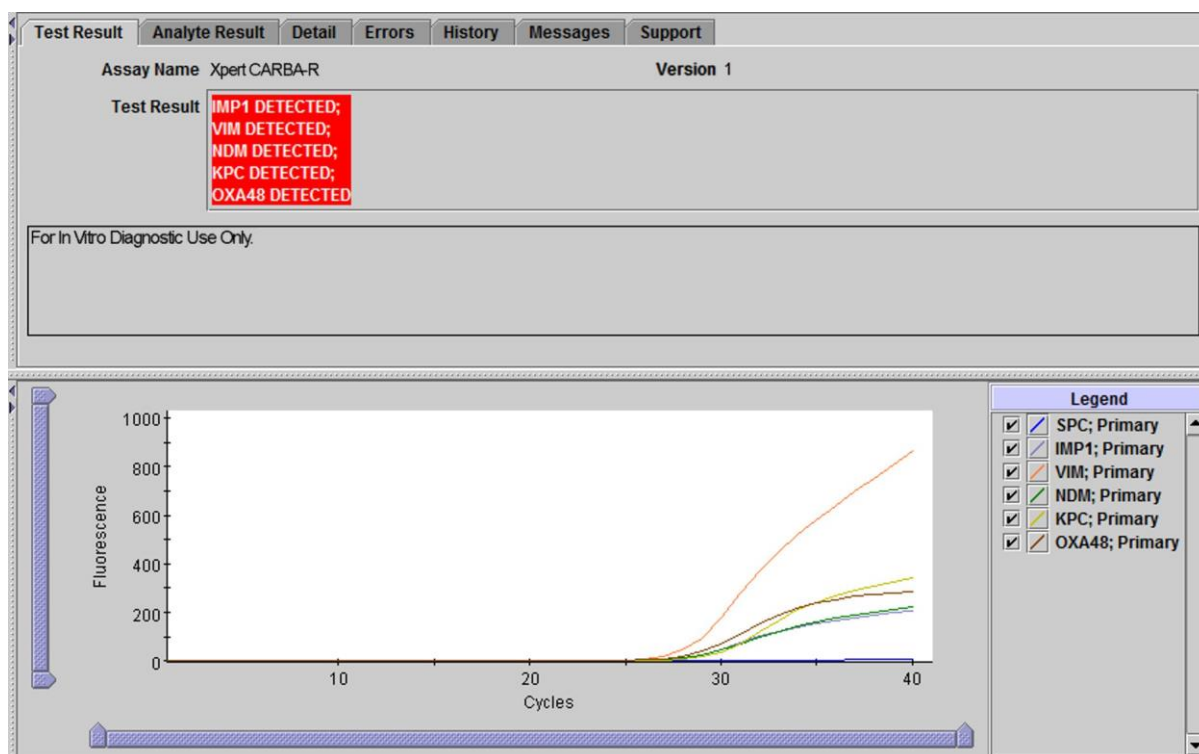
Obrázek 6. Test Carba-R - detekce IMP-1 a NDM



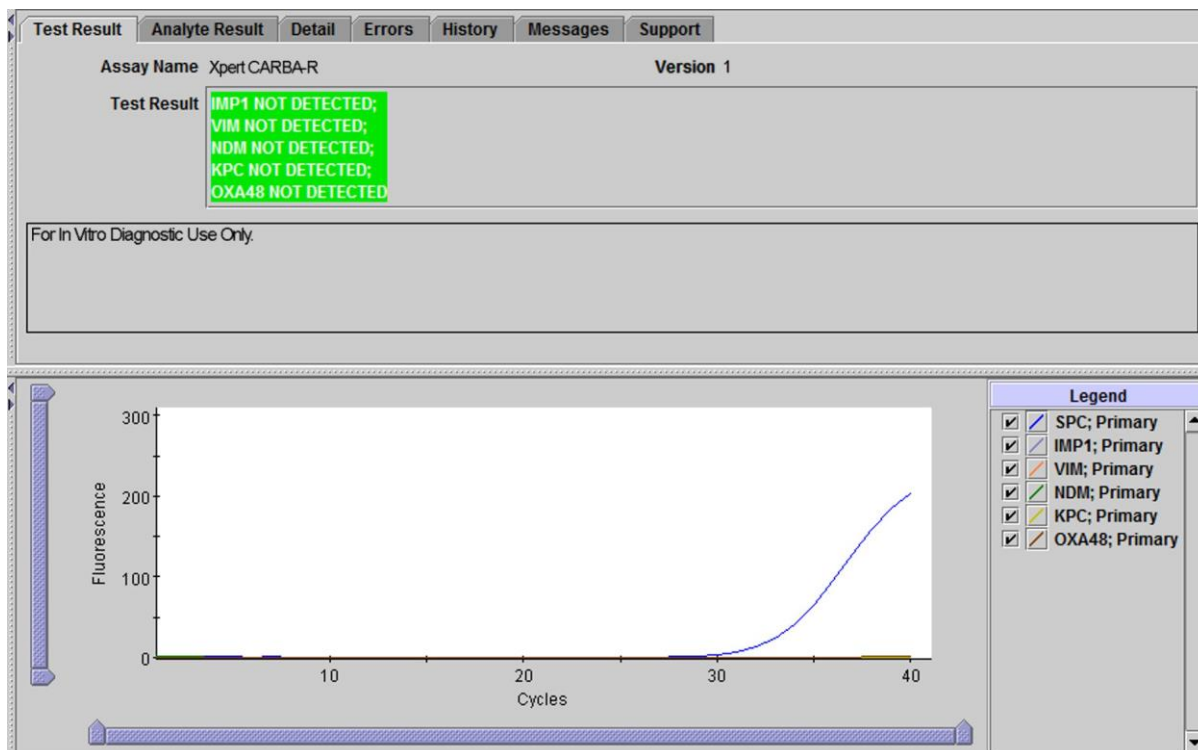
Obrázek 7. Test Carba-R - detekce IMP-1, VIM a OXA-48



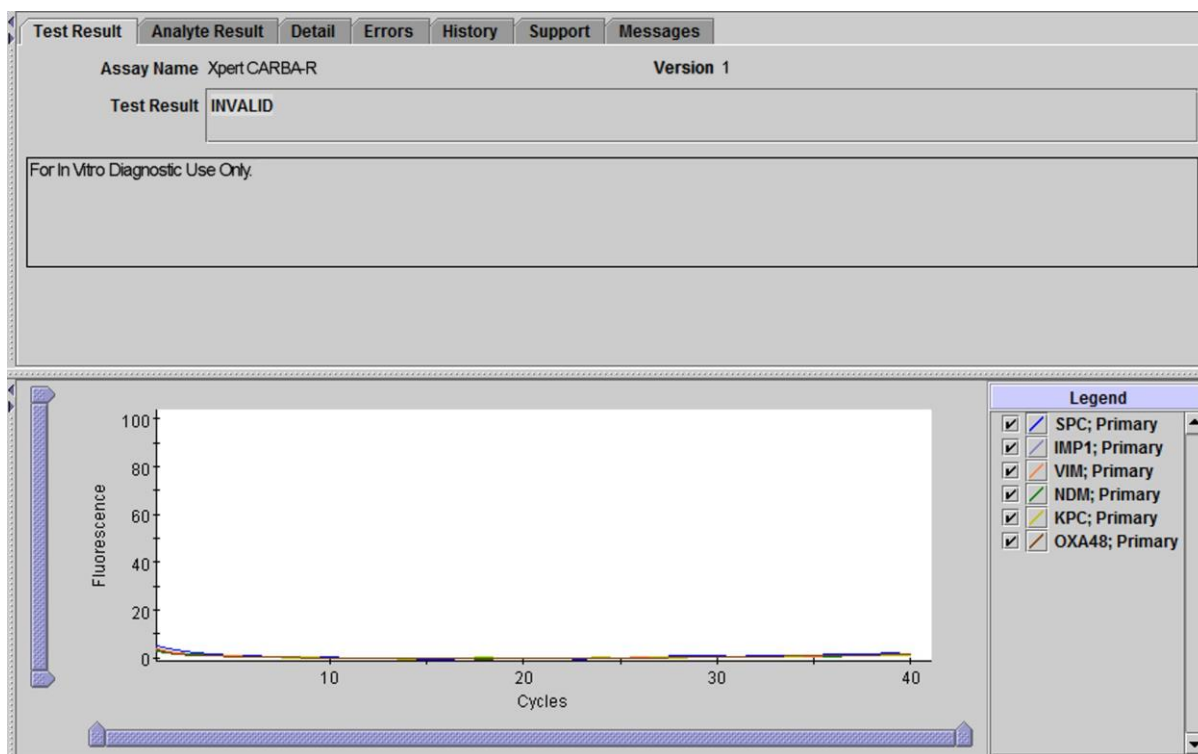
Obrázek 8. Test Carba-R - detekce IMP-1, VIM, NDM a OXA-48



Obrázek 9. Test Carba-R - detekce IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48



Obrázek 10. Test Carba-R-IMP-1, VIM, NDM, KPC a OXA-48 nebyly detekovány



Obrázek 11. Test Carba-R - INVALID

12 Důvody pro opakování testu

Test opakujte s použitím nové kazety (kazetu nepoužívejte opakovaně) a nové lahvičky se vzorkovacím činidlem pro ředění.

- Výsledek **INVALID** znamená, že kontrolní SPC selhalo. Vzorek nebyl správně zpracován nebo je PCR inhibována, případně byl přidán nedostatečný objem vzorku.
- Výsledek **ERROR** znamená, že kontrola sondy selhala a analýza byla přerušena pravděpodobně z důvodu nesprávného naplnění reakční zkumavky, byl zjištěn problém s integritou reagenční sondy, protože byly překročeny maximální tlakové limity nebo byla zjištěna chyba v polohování ventilu.
- **Výsledek NO RESULT** znamená, že nebyl shromážděn dostatek údajů. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení.
- Pokud externí kontrola kvality neproběhne podle očekávání, zopakujte test externí kontroly a/nebo kontaktujte společnost Cepheid a požádejte o pomoc.

13 Postup opakovaného testování

1. Vyjměte ze sady novou kazetu a novou lahvičku se vzorkovacím činidlem.
2. Přeneste zbývající kapalinu z původní lahvičky se vzorkovacím činidlem obsahující vortexovaný vzorek rektálního stěru (který byl uchovávan při teplotě 2-28 °C; viz bod 9.1) do nové lahvičky se vzorkovacím činidlem.
3. Uzavřete uzávěr lahvičky se vzorkovacím činidlem a 10 sekund vortex vysokou rychlostí.
4. Pokračujte v dalších krocích testování od kroku 6 v části 9.1, Příprava kazety.

14 Omezení

- Pro diagnostické použití *in vitro*.
- Aby se zabránilo kontaminaci vzorků nebo reagencií, doporučuje se dodržovat správné laboratorní postupy, včetně výměny rukavic mezi manipulací se vzorky pacientů.
- K chybným výsledkům testu může dojít v důsledku nesprávného odběru vzorku, nedodržení doporučených postupů odběru, manipulace a skladování vzorku, technické chyby, záměny vzorku nebo proto, že počet organismů ve vzorku je příliš nízký na to, aby byl testem detekován. Aby se předešlo chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat pokyny uvedené v této příbalové informaci.
- Protože detekce sekvencí genů *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* a *bla_{IMP-1}* závisí na počtu organismů přítomných ve vzorku, jsou spolehlivé výsledky závislé na správném odběru, manipulaci a skladování vzorků.
- Pozitivní výsledek testu nemusí nutně znamenat přítomnost životaschopných organismů.
- Testování pomocí testu Xpert Carba-R by se mělo používat jako doplněk k ostatním dostupným metodám.
- Mutace nebo polymorfismy ve vazebných oblastech primerů nebo sond mohou ovlivnit detekci nových nebo neznámých variant *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* a *bla_{IMP-1}*, což může vést k falešně negativnímu výsledku.
- Ve smíšené kultuře obsahující organismy s více než jednou z pěti cílových genových sekvencí se může LoD testu lišit, zejména pokud je přítomna extrémně vysoká koncentrace jedné nebo více z pěti genových sekvencí.
- Stejně jako u všech diagnostických testů *in vitro* založených na PCR mohou být detekovány extrémně nízké hladiny cíle pod LoD testu, ale výsledky nemusí být reprodukovatelné.
- Výsledky testu Xpert Carba-R mohou být někdy **INVALIDNÍ** z důvodu selhání kontroly SPC nebo mohou mít výsledek **ERROR** nebo **NO RESULT** a vyžadovat opakování testování, což může vést ke zpoždění při získávání konečných výsledků.

15 Výkonnostní charakteristiky

Výkonnostní charakteristiky testu Xpert Carba-R byly hodnoceny v rámci prospektivní studie na více místech ve dvou institucích v USA a dvou institucích v Evropě (EU). Vzhledem k nízké prevalenci organismů obsahujících geny rezistentní ke karbapenemům v případě, že nedošlo k epidemii, a k obtížím při získávání čerstvých vzorků obsahujících organismy necitlivé ke karbapenemům, byly prospektivní vzorky odebrané pro tuto studii doplněny vymyšlenými vzorky (dobře charakterizované izoláty nasazené do negativní matrice rektálního výtěru).

Subjekty zahrnovaly osoby, jejichž běžná péče zahrnovala odběr vzorků rektálního stěru pro screening organismů rezistentních ke karbapenemům, nebo osoby, které poskytly informovaný souhlas. K odběru vzorků rekta od způsobilých subjektů byla použita sada dvojitých stěrů. Jeden tampon ze sady byl použit pro referenční kultivaci a testování citlivosti; druhý tampon byl použit pro testování pomocí testu Xpert Carba-R Assay. DNA ze všech izolátů necitlivých na karbapenemy byla extrahována a odeslána do nezávislé laboratoře k identifikaci sekvence DNA. Management pacientů pokračoval na pracovišti podle standardních postupů.

Testování citlivosti bylo provedeno v souladu s dokumenty CLSI M2-A11, M7-A9 a M100-S23.^{13,14,15} Pro detekci rezistence ke karbapenemům byly použity disky meropenemu v diskovém difuzním testu.

Výsledky testu Xpert Carba-R byly porovnány s referenční kulturou a se sekvenováním u kultivačně potvrzených izolátů necitlivých na karbapenem.

Celkem 633 vzorků bylo testováno testem Xpert Carba-R na cílové sekvence genů rezistentních ke karbapenemům (*bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} a *bla*_{IMP-1}) a referenční metodou. V porovnání s referenční metodou prokázal test Xpert Carba-R Assay celkovou citlivost 96,6 % (95% CI: 92,2-98,9) a specifčnost 98,6 % (95% CI: 97,1-99,4) (tabulka 2) na kombinovaném souboru vymyšlených a prospektivních vzorků. Výsledky testu Xpert Carba-R byly definovány jako pozitivní, pokud byla detekována jedna nebo více z pěti cílových sekvencí, a negativní, pokud nebyla detekována žádná z cílových sekvencí.

Tabulka 2. Celková výkonnost Xpert Carba-R vs. referenční kultura + sekvenování

Xpert Carba-R	Kultura + sekvenování			
		Pozitivní	Negativní	Celkem
	Pozitivní	142	7	149
	Negativní	5	479	484
	Celkem	147	486	633
Citlivost: 96,6 % (95% CI: 92,2-98,9) Specifičnost: 98,6 % (95% CI: 97,1-99,4)				

Tabulka 3 uvádí pozitivní prediktivní hodnotu (PPV), negativní prediktivní hodnotu (NPV) a odhady přesnosti testu Xpert Carba-R v závislosti na prevalenci.

Tabulka 3. Celkové odhady PPV, NPV a přesnosti testu Xpert Carba-R v závislosti na prevalenci

Prevalence	PPV	NPV	Přesnost
0.00%	0.00%	100.00%	98.56%
10.00%	88.17%	99.62%	98.36%
20.00%	94.37%	99.14%	98.17%
30.00%	96.64%	98.54%	97.97%
40.00%	97.81%	97.75%	97.78%
50.00%	98.53%	96.66%	97.58%
60.00%	99.02%	95.08%	97.38%
70.00%	99.37%	92.55%	97.19%
80.00%	99.63%	87.87%	96.99%
90.00%	99.83%	76.30%	96.79%
100.00%	100.00%	0.00%	96.60%

Tabulka 4 uvádí tabulku výsledků testu Xpert Carba-R podle jednotlivých cílů pro všechny vzorky. Celkem bylo 633 vzorků, každý s výsledky pro pět jednotlivých cílů, celkem 3165 výsledků.

Tabulka 4. Tabulka všech výsledků testu Xpert Carba-R podle jednotlivých cílů

		Kultura + sekvenování						
Xpert Carba-R		IMP-1+	VIM+	NDM+	KPC+	OXA-48+	NEG	Celkem
	IMP-1+	26	0	0	0	0	0	26
	VIM+	0	29	0	0	0	1	30
	NDM+	0	0	26	0	0	1	27
	KPC+	0	0	0	29	0	4	33
	OXA-48+	0	0	0	0	38	1	39
	NEG	1	2	0	1	2	3004 ^a	3010
	Celkem	27	31	26	30	40	3011	3165

a. Negativní párové výsledky (celkem 3004) byly rozděleny takto: 606 oba testy IMP-1 a NEG; 601 oba testy VIM a NEG; 606 oba testy NDM a NEG; 599 oba testy KPC a NEG; 592 oba testy OXA-48 a NEG.

Ve srovnání s referenční metodou prokázal test Xpert Carba-R citlivost a specifičnost pro cíl IMP-1 96,3 %, resp. 100 %. Viz tabulka 5.

Tabulka 5. Výkonnost testu Xpert Carba-R - IMP-1

		Kultura + sekvenování		
Xpert Carba-R		Pozitivní	Negativní	Celkem
	Pozitivní	26	0	26
	Negativní	1	606	607
	Celkem	27	606	633
		Citlivost: 96,3 % (95% CI: 81,0-99,9) Specifičnost: 100 % (95% CI: 99,4-100)		

Ve srovnání s referenční metodou prokázal test Xpert Carba-R citlivost 93,5 % a specifičnost 99,8 % pro cíl VIM. Viz tabulka 6.

Tabulka 6. Výkonnost testu Xpert Carba-R - VIM

		Kultura + sekvenování		
Xpert Carba-R		Pozice	Negativní	Celkem
	Pozitivní	29	1	30
	Negativní	2	601	603
	Celkem	31	602	633
		Citlivost: 93,5 % (95% CI: 78,6-99,2) Specifičnost: 99,8 % (95% CI: 99,1-100)		

V porovnání s referenční metodou prokázal test Xpert Carba-R citlivost 100 % a specifickou 99,8 % pro cílovou skupinu NDM. Viz tabulka 7.

Tabulka 7. Výkonnost testu Xpert Carba-R-NDM

	Kultura + sekvenování			
Xpert Carba-R		Pozitivní	Negativní	Celkem
	Pozitivní	26	1	27
	Negativní	0	606	606
	Celkem	26	607	633
Citlivost: 100 % (95% CI: 86,8-100) Specifická: 99,8 % (95% CI: 99,1-100)				

Ve srovnání s referenční metodou prokázal test Xpert Carba-R citlivost 96,7 % a specifickou 99,3 % pro cílovou skupinu KPC. Viz tabulka 8.

Tabulka 8. Výkonnost testu Xpert Carba-R-KPC

	Kultura + sekvenování			
Xpert Carba-R		Pozitivní	Negativní	Celkem
	Pozitivní	29	4	33
	Negativní	1	599	600
	Celkem	30	603	633
Citlivost: 96,7 % (95% CI: 82,8-99,9) Specifická: 99,3 % (95% CI: 98,3-99,8)				

Ve srovnání s referenční metodou prokázal test Xpert Carba-R citlivost a specifickou pro cíl OXA-48 95,0 %, resp. 99,8 %. Viz tabulka 9.

Tabulka 9. Výkonnost testu Xpert Carba-R-OXA-48

	Kultura + sekvenování			
Xpert Carba-R		Pozitivní	Negativní	Celkem
	Pozitivní	38	1	39
	Negativní	2	592	594
	Celkem	40	593	633
Citlivost: 95,0 % (95% CI: 83,1-99,4) Specifická: 99,8 % (95% CI: 99,1-100)				

16 Analytický výkon

16.1 Analytická citlivost (mez detekce)

Byly provedeny studie ke stanovení analytického limitu detekce (LoD) testu Xpert Carba-R s organismy produkujícími karbapenemázu, které byly naočkovány do negativní matrice poolovaného lidského rektálního výtěru. LoD byla stanovena pro dvě bakterie produkující karbapenemázu pro každý analytický gen, tj. geny kódující KPC, NDM, VIM, OXA-48 a IMP-1. Bakterie byly titrovány pomocí destičkových počtů a naředěny do negativní matrice ze sdruženého rektálního výtěru. Bylo vyhodnoceno 20 replikátů v minimálně šesti různých koncentracích a LoD byly odhadnuty probitovou analýzou. Pro tuto studii je odhadnutá LoD definována jako nejnižší koncentrace cílových buněk, kterou lze s 95% spolehlivostí reprodukovatelně odlišit od negativních vzorků. Studie byla provedena se dvěma různými šaržemi reagentů Xpert Carba-R a deklarovaná LoD je vyšší z obou stanovení. Odhadované LoD byly ověřeny přípravou a testováním 10 replikátů ze dvou nezávislých ředění každé bakterie při každé odhadované LoD.

Ve všech případech byl horní jednostranný 95% CI podílu pozitivních výsledků větší než 95 %, tj. $\geq 19/20$.

Tvrzení LoD pro každou dvojici organismů produkujících karbapenemázu je uvedeno v tabulce 10.

Tabulka 10. LoD pro organismy produkující karbapenemázu

Organismus	ID kmene	LoD (CFU/swab)
KPC <i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13438	348
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	C8823	750
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC BAA-2146	246
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	C8658	306
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	OM22	213
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	501	451
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	695	1165
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMPBMI	258
VIM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	C8667	274
VIM <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	C10107	118

16.2 Analytická reaktivita (inkluzivita)

Analytická citlivost testu Xpert Carba-R byla vyhodnocena testováním panelu 60 vzorků, který se skládal z 20 dobře charakterizovaných bakteriálních kmenů pro cíl *bla*_{OXA-48} (který zahrnuje varianty *bla*_{OXA-181/232}) a 10 dobře charakterizovaných bakteriálních kmenů pro každý ze čtyř dalších cílů testu Carba-R. Viz tabulka 11. Organismy byly testovány ve třech opakováních v poolovaných negativních testech matrice rektálního stěru. Všechny organismy byly testovány v blízkosti analytického limitu detekce (LoD) a koncentrace byly potvrzeny nanesením na neselektivní média ve třech opakováních a stanovením počtu životaschopných organismů. Za podmínek této studie bylo pomocí testu Xpert Carba-R zjištěno všech 60 bakteriálních kmenů. Inkluzivita byla 100 %.

Tabulka 11. Seznam organismů produkujících karbapenemázu a koncentrace (CFU/ml) testovaných pomocí testu Xpert Carba-R

Organismus	ID kmene	Potvrzená charakteristika	Testovaná koncentrace (CFU/ml)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13438	KPC-3	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31551	KPC-4	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC BAA-1705	KPC	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	COL	KPC-2	100
<i>Enterobacter aerogenes</i>	KBM18	KPC-2	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	BM9	KPC-3	100

Tabulka 11. Seznam organismů produkujících karbapenemázu a koncentrace (CFU/ml) testovaných pomocí testu Xpert Carba-R (pokračování)

Organismus	ID kmene	Potvrzená charakteristika	Testovaná koncentrace (CFU/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA3	KPC-2	100
<i>Serratia marcescens</i>	CGNC	KPC-2	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	CFVL	KPC-2	100
<i>Escherichia coli</i>	COL	KPC-2	100
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 13476	IMP	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	695	IMP-1	450
<i>Enterobacter cloacae</i>	2340	IMP-1	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMPBMI	IMP	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Yonsei_1	IMP	500
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Yonsei_2	IMP	500
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6852	IMP-1	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MKAM	IMP-1	200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	70450-1	IMP	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3994	IMP-10	200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 13437	VIM-10	400
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13439	VIM-1	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13440	VIM-1	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	758	VIM	400
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	PA_87	VIM	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B92A	VIM	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Col1	VIM-2	400
<i>Serratia marcescens</i>	BM19	VIM-2	100
<i>Escherichia coli</i>	KOW7	VIM-4	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DIH	VIM-19	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13443	NDM-1	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC BAA-2146	NDM-1	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34262	NDM	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	AB-GEN	NDM-1	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	3047	NDM-1	100
<i>Proteus mirabilis</i>	7892	NDM-1	100
<i>Salmonella spp.</i>	CAN	NDM-1	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	EGY	NDM-2	100
<i>Escherichia coli</i>	I5	NDM-4	100
<i>Escherichia coli</i>	405	NDM-5	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13442	OXA-48	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OM11	OXA-48	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	501	OXA-48	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DUW	OXA-48	100

Tabulka 11. Seznam organismů produkujících karbapenemázu a koncentrace (CFU/ml) testovaných pomocí testu Xpert Carba-R (pokračování)

Organismus	ID kmene	Potvrzená charakteristika	Testovaná koncentrace (CFU/ml)
<i>Escherichia coli</i>	OM22	OXA-48	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	BOU	OXA-48	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	TUR	OXA-48	100
<i>Escherichia coli</i>	11670	OXA-48	100
<i>Escherichia coli</i>	AME	OXA-48	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11978	OXA-48	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	166643	OXA-181	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	42194	OXA-181	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-6	OXA-181	150
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-44	OXA-181	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-64	OXA-181	150
<i>Escherichia coli</i>	MSH2014-72	OXA-181	100
<i>Escherichia coli</i>	MSH2014-73	OXA-181	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-18	OXA-232	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-51	OXA-232	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MSH2014-75	OXA-232	50

16.3 Analytická křížová reaktivita (exkluzivita)

Analytická specifita testu Xpert Carba-R byla hodnocena testováním panelu 54 vzorků, který se skládal z 22 dobře charakterizovaných bakteriálních kmenů s příbuznými profily rezistence (viz tabulka 12), 28 dobře charakterizovaných bakteriálních kmenů reprezentujících běžné patogeny nebo nepatogeny, které se mohou vyskytovat v gastrointestinálním traktu (viz tabulka 13), tří virových organismů reprezentujících viry potenciálně přítomné v gastrointestinálním traktu (viz tabulka 13) a jedné buněčné linie karcinomu močového měchýře, která reprezentuje lidskou genomovou DNA (viz tabulka 14).

Všechny bakteriální kmeny byly kultivovány a titrovány. Kmeny byly testovány v koncentracích $\geq 10^5$ CFU/ml. Adenovirus a enterovirus byly testovány v koncentracích $\geq 10^5$ TCID₅₀ /ml; norovirus byl testován jako norovirus pozitivní klinický vzorek v koncentraci $2,5 \times 10^7$ kopií RNA/ml. Buněčná linie močového měchýře (lidská genomová DNA) byla testována v koncentraci 1×10^5 buněk/ml. Organismy byly naředěny do sdružené negativní matrice rektálního výtěru a testovány ve třech opakováních. Žádný z 54 potenciálně zkříženě reagujících organismů a testovaných nukleových kyselin nebyl testem Xpert Carba-R zjištěn. Do studie byly zahrnuty pozitivní a negativní kontroly. Analytická specifita byla 100 %.

Tabulka 12. Seznam organismů s příbuznou rezistencí

Název organismu	Přítomnost beta-laktamáz	Testovaná koncentrace (CFU/ml)
<i>Escherichia coli</i>	CTX-M (15)	5.0×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M (25)	7.5×10^7
<i>Enterobacter cloacae</i>	Deficit OmpC/OmpF	9.9×10^7
<i>Citrobacter freundii</i>	TEM (WT+164S)	7.3×10^7
<i>Enterobacter cloacae</i>	AmpC (ACT/MIR)	4.9×10^7
<i>Escherichia coli</i>	CTX-M (2); TEM; OXA-2	1.3×10^7
<i>Enterobacter cloacae</i>	CTX-M (2); TEM	9.5×10^7
<i>Serratia marcescens</i>	CTX-M (2); TEM	2.2×10^7

Tabulka 12. Seznam organismů s příbuznou rezistencí (pokračování)

Název organismu	Přítomnost beta-laktamáz	Testovaná koncentrace (CFU/ml)
<i>Morganella morganii</i>	CTX-M (2); TEM	9.3×10^7
<i>Proteus mirabilis</i>	CTX-M (2); TEM	8.2×10^7
<i>Salmonella spp.</i>	CTX-M (U)	7.8×10^7
<i>Shigella flexnerii</i>	CTX-M (2); TEM	3.8×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV	4.1×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13; CTX-M; SHV-1;	8.8×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M (15); SHV-11; TEM-1	3.8×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M (15); SHV	5.3×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV-27	8.3×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV (-5, -55); TEM	5.8×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M (15); SHV; TEM	6.4×10^7
<i>Enterobacter aerogenes</i>	SHV (WT+238S+240K)	6.5×10^7
<i>Enterobacter aerogenes</i>	SHV (WT+238S+240K)	9.0×10^7
<i>Escherichia coli</i>	AmpC (CMY II); TEM	8.0×10^8

Tabulka 13. Seznam komenzálních a jiných enterických mikroorganismů

Název organismu	Zdroj:	Testovaná koncentrace (CFU/ml)
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	6.1×10^7
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	2.0×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	6.0×10^7
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35218	9.8×10^7
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	1.3×10^8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	2.9×10^7
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 700621	5.2×10^7
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	6.8×10^7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC 13182	8.0×10^7
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC BAA-747	2.2×10^7
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	9.4×10^7
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	1.2×10^7
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	ATCC 51331	4.9×10^7
<i>Citrobacter koseri</i>	ATCC 27028	$> 1.5 \times 10^8$
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	5.3×10^7
<i>Streptococcus agalactiae</i>	CCUG 29780/ATCC 12401	3.1×10^7
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 51697	7.8×10^7
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	3.4×10^7
<i>Acinetobacter spp.</i>	CCUG 34787	1.6×10^7
<i>Bifidobacterium adolescent</i>	CCUG 24604	2.3×10^7
<i>Campylobacter jejuni</i>	CCUG 43594/ATCC 33560	1.5×10^6

Tabulka 13. Seznam komenzálních a jiných enterických mikroorganismů (pokračování)

Název organismu	Zdroj:	Testovaná koncentrace (CFU/ml)
<i>Citrobacter freundii</i>	CCUG 418	$> 1.5 \times 10^8$
<i>Clostridium difficile</i> (netoxigenní)	ATCC 700057	4.5×10^7
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	CCUG 33629	4.0×10^7
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 17874	1.3×10^7
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 33548	$> 1.5 \times 10^8$
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	CCUG 7835	5.0×10^5
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	7.8×10^7
Adenovirus B typ 7A/NY	MRVP/Zeptomatrix	$1,4 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml ₅₀
Enterovirus typu 71/NY	MRVP/Zeptomatrix	$4,4 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml ₅₀
Norovirus GII	Klinický vzorek - Cefeid Solna	$2,5 \times 10^7$ kopií RNA/ml

Tabulka 14. Buněčná linie reprezentující lidskou genomovou DNA

Název organismu	Zdroj:	Testovaná koncentrace (buněk/ml)
Karcinom močového měchýře (hgDNA)	ATCC HTB-4	1.0×10^5

16.4 Potenciálně interferující látky

V neklinické studii bylo pomocí testu Xpert Carba-R hodnoceno 23 potenciálně interferujících látek, které mohou být přítomny ve vzorcích rektálního stěru. Roztoky potenciálně interferujících látek byly připraveny a testovány v koncentracích uvedených v tabulce 15. Pro každou látku bylo testováno osm opakovaných negativních vzorků, aby se zjistil vliv na výkonnost kontroly zpracování vzorku (SPC).

Aby se zjistilo, zda přítomnost potenciálně rušivých látek způsobuje falešně negativní výsledky, bylo testováno osm opakovaných pozitivních vzorků na každou látku. Pozitivní vzorky se skládaly ze směsi pěti organismů produkujících karbapenemázy v koncentracích 2-4x analytické LoD dříve stanovené pro každý organismus. Látky a organismy byly pro testování nařazeny do vzorkovacího činidla.

Vliv každé potenciálně interferující látky na pozitivní a negativní replikáty byl vyhodnocen porovnáním prahových hodnot cílového cyklu (Ct) generovaných v přítomnosti látky s hodnotami Ct z kontrolních vzorků bez přítomnosti látky.

V přítomnosti 23 potenciálně interferujících látek nebyly pozorovány žádné neplatné výsledky způsobené inhibicí SPC u negativních vzorků. Z 23 potenciálně inhibičních látek měl Pepto-Bismol (subsaliicylát bizmutu) 0,25 % w/v statisticky významný inhibiční účinek na detekci IMP-1 v testu Xpert Carba-R. Žádné další statisticky významné inhibiční účinky nebyly pozorovány.

Tabulka 15. Testované potenciálně rušivé látky

Látka/třída	Aktivní složka	Testovaná koncentrace
Nesteroidní protizánětlivé léky	Naproxen	0,25 % w/v
Zobrazovací sloučenina	Síran barnatý	0,25 % w/v
Antibiotika (perorální)	Cephalexin	0,25 % w/v
	Ciprofloxin	0,25 % w/v
Antibiotika (lokální)	Polymixin B/Neomycin/Bacitracin	0,25 % w/v
Krémy/masti/supozitory	Hydrokortizon	0,25 % w/v
Projímadlo	Sennosidy	0,25 % w/v
Enemy	Minerální olej	0,25 % w/v
Léky proti průjmu	Loperamid hydrochlorid	0,25 % w/v
	Bismut subsalicylát (2)	0,25 % w/v
Lokální krém	Chlorhexidin glukonát a methylhydroxybenzoát	0,25 % w/v
	Vazelína	0,25 % w/v
Antacida	Uhličitán vápenatý/hydroxid hlinitý/hydroxid hořečnatý/simetikon	0,25 % w/v
	Cimetidin	0,25 % w/v
	Famotidin	0,25 % w/v
Snižovač kyselosti; antacidum	Omeprazol	0,25 % w/v
Vaginální přípravek proti plísním a svědění	Nystatin	0,25 % w/v
	Benzokain, resorcinol	0,25 % w/v
Krémy/masti proti hemoroidům	Fenylefrin	0,25 % w/v
Enemy	Fyziologický roztok	0,25 % w/v
Kondom se spermicidním lubrikantem	Nonoxynol-9	1 condoma
Vlhčené ubrousky	Benzalkoniumchlorid ethanol	1 kusb

a. Jeden kondom se přidá do 40 ml vzorkovacího činidla.

b. Jeden kus (5 x 7½ palce) se přidá do 40 ml vzorkovacího činidla.

16.5 Studie přenosu kontaminace

Byla provedena studie, která prokázala, že jednorázové samostatné kazety GeneXpert zabraňují kontaminaci negativních vzorků. Studie spočívala ve zpracování negativního vzorku ve stejném modulu GeneXpert bezprostředně po velmi pozitivním vzorku. Vysoce pozitivní vzorek se skládá z inaktivovaných buněk *E. coli* obsahujících plazmid s insertem sestávajícím ze syntetického oligonukleotidu amplikonových sekvencí pěti cílových genů analytu Xpert Carba-R. V tomto případě se jedná o vzorek, který se skládá ze syntetických oligonukleotidů. Pozitivní buňky byly naředěny do sdružené matrice negativního rektálního výtěru na koncentraci 1×10^6 CFU/ml. Schéma testování bylo opakováno 20krát na dvou modulech GeneXpert pro celkem 102 testů (25 vysoce pozitivních vzorků na modul a 26 negativních vzorků na modul). U všech 50 pozitivních vzorků byly správně zaznamenány všechny cíle Xpert Carba-R jako **DETECTED**. Všechny 52 negativních vzorků správně vyhodnotilo všechny cíle Xpert Carba-R jako **NOT DETECTED**.

16.6 Reprodukovatelnost testu

Reprodukovatelnost testu Xpert Carba-R byla hodnocena v pětidenní multicentrické studii, v níž dva operátoři na každém ze tří pracovišť zaslepeně testovali 11členný panel přesnosti. Každý člen panelu byl testován v replikátech po třech, celkem tedy 90 replikátů na člena panelu. Tento panel se skládal z dobře charakterizovaných izolátů, které byly vloženy do negativní matrice rektálního výtěru. Údaje jsou shrnuty podle cíle testu. Viz tabulka 16 a tabulka 17.

Tabulka 16. Souhrn výsledků reprodukovatelnosti - % shody podle místa studie/operátora

Vzorek	Místo 1		Místo 2		Místo 3		% Celková shoda podle vzorku
	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
KPC low pos	80.00% (12/15)	86.70% (13/15)	80.00% (12/15)	93.30% (14/15)	86.70% (13/15)	93.30% (14/15)	86.7% (78/90)
KPC mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
VIM low pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	93.30% (14/15)	86.70% (13/15)	96.7% (87/90)
VIM mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
NDM low pos	100% (15/15)	100% (15/15)	73.30% (11/15)	86.70% (13/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	93.3% (84/90)
NDM mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
OXA-48 low pos	100% (15/15)	86.70% (13/15)	80.00% (12/15)	86.70% (13/15)	93.30% (14/15)	86.70% (13/15)	88.9% (80/90)
OXA-48 mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
IMP-1 low pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	86.70% (13/15)	86.70% (13/15)	100% (15/15)	95.6% (86/90)
IMP-1 mod pos	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)
Negativní	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)	100% (90/90)

Tabulka 17. Souhrn údajů o reprodukovatelnosti^a

Vzorek	Analytický kanál (analyt)	N ^b	Prům. Ct	Mezi-Místy		Mezi- dny		Mezi operátory		V rámci testu		Celkem	
				SD ^c	CV ^d (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
KPC low pos	KPC	84	36.1	0.13	0.4	0	0	0.08	0.2	1.14	3.2	1.15	3.2
KPC mod pos	KPC	90	34.0	0	0	0.21	0.6	0.15	0.4	0.53	1.6	0.59	1.7
VIM low pos	VIM	89	35.0	0.35	1	0	0	0.28	0.8	1.08	3.1	1.17	3.4
VIM mod pos	VIM	90	31.6	0.15	0.5	0	0	0.18	0.6	0.34	1.1	0.41	1.3
NDM low pos	NDM	87	35.8	0.16	0.4	0.07	0.2	0.17	0.5	0.86	2.4	0.89	2.5
NDM mod pos	NDM	90	33.2	0	0	0.13	0.4	0	0	0.58	1.8	0.60	1.8
OXA-48 low pos	OXA-48	87	36.6	0	0	0	0	0	0	0.99	2.7	0.99	2.7
OXA-48 mod pos	OXA-48	90	32.4	0.09	0.3	0	0	0	0	0.37	1.1	0.38	1.2
IMP-1 low pos	IMP-1	89	36.1	0	0	0.13	0.4	0.29	0.8	0.89	2.5	0.95	2.6
IMP-1 mod pos	IMP-1	90	33.7	0.04	0.1	0.09	0.3	0.15	0.4	0.49	1.5	0.52	1.5
Negativní	SPC	90	33	0	0	0	0	0.27	0.8	0.63	1.9	0.69	2.1

- a. Variabilita některých faktorů může být číselně záporná, což může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá. V takovém případě se variabilita měřená pomocí SD a CV nastaví na 0.
- b. Výsledky s nenulovými hodnotami Ct z 90.
- c. SD = směrodatná odchylka.
- d. CV = variační koeficient.

17 Odkazy

1. Kallen AJ, et al. 2010. Current epidemiology of multidrug-resistant gram-negative bacilli in the United States (Současná epidemiologie multirezistentních gramnegativních bakterií ve Spojených státech). *Infect Control Hosp Epidemiol.* 31 Suppl 1: S51-54.
2. Nordmann P, et al. Cornaglia. 2012. Enterobakterie produkující karbapenemázu: výzva k akci! *Clin Microbiol Infect.* 18: 411-412.
3. Cornaglia G, et al. 2011. Metallo-beta-laktamázy: poslední hranice pro beta-laktamy? *Lancet Infect Dis.* 11: 381-393.
4. Kitchel B, et al. 2009. Molekulární epidemiologie *Klebsiella pneumoniae* produkující KPC ve Spojených státech: Klonální expanze MLST sekvence typu 258. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:3365-3370.
5. Schwaber MJ, et al. 2011. Omezení celostátní epidemie karbapenem-rezistentní *Klebsiella pneumoniae* v izraelských nemocnicích prostřednictvím celostátně prováděné intervence. *Clin Infect Dis.* 52: 848-855.
6. Kumarasamy KK, et al. 2010. Vznik nového mechanismu rezistence vůči antibiotikům v Indii, Pákistánu a Spojeném království: molekulární, biologická a epidemiologická studie. *Lancet Infect Dis.* 10: 597-602.
7. Cuzon G, et al. 2008. Karbapenem-hydrolyzující beta-laktamáza OXA-48 kódovaná plazmidem u kmene *Klebsiella pneumoniae* z Belgie citlivého na imipenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 3463-3464.
8. Nordmann P, et al. 2011. Globální šíření enterobakterií produkujících karbapenemázy. *Emerg Infect Dis.* 17: 1791-1798.
9. Grundmann H, et al. 2010. Karbapenem necitlivé enterobakterie v Evropě: závěry ze setkání národních odborníků. *Euro Surveill.* 15.
10. Centra pro kontrolu a prevenci nemocí. 2012. Guidance for Control of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) - 2012 CRE Tool kit. Edited by Department of Health and Human Services, <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-toolkit/index.html>.
11. Centra pro kontrolu a prevenci nemocí. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (viz poslední vydání). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (dříve National Committee for Clinical Laboratory Standards). Ochrana laboratorních pracovníků před infekcemi získanými při práci; schválený pokyn. Dokument M29 (viz poslední vydání).
13. CLSI M100-S23. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-third informational supplement, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
14. CLSI M7-A9. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Ninth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
15. CLSI M2-A11. 2012. Výkonnostní standardy pro diskové testy citlivosti na antimikrobiální látky; schválená norma. Eleventh Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.

18 Sídla společnosti Cepheid

Sídlo společnosti	Evropské ústředí
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089-1189 USA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont Francie
Telefon: +1 408.541.4191	Telefon: +33 563 825 300
Fax: +1 408 541 4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com/

19 Technická pomoc

Před kontaktováním technické podpory společnosti Cepheid shromážděte následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo přístroje
- Chybová hlášení (pokud existují)
- Verze softwaru a případně číslo servisního štítku počítače.

Kontaktní informace

Spojené státy americké

Telefon: + 1 888 838

E-mail: techsupport@cepheid.com

Francie

3222Telefon: + 33 563 825 319

Email: support@cepheideurope.com

Kontaktní informace na všechny pobočky technické podpory společnosti Cepheid jsou k dispozici na našich webových stránkách: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

20 Tabulka symbolů

Symbol	Význam
	Katalogové číslo
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Nepoužívejte znovu
	Kód dávky
	Přečtěte si návod k použití
	Upozornění
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů
	Kontrola
	Datum vypršení platnosti
	Označení CE - evropská shoda
	Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství
	Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku
	Dovozce
	Omezení teploty
	Biologická rizika
	Varování



CepheidCepheid
904 Caribbean
Sunnyvale, CA
USA
Telefon: +1.408.541.4191
Fax: +1.408.541.4192



Europe SAS
DriveVira Solelh
9408981470 Maurens-Scopont
Francie
Phone: +33 563 825 300
Fax: +33 563 825 301



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



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



