

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Návod k použití

IVD CE

Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

The purchase of this product includes a limited, non-transferable license under U.S Patent No.7,449,289, owned by GeneOhm Sciences Canada, Inc (a subsidiary of Becton, Dickinson and Company), to use such product for human IVD use with a GeneXpert® instrument. No right under U.S Patent NO. 7,449,289 is conveyed, expressly, by implication, or by estoppel, to use this product for any other purpose.

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.

© 2011-2021 Cepheid. All rights reserved.

Cepheid®, logo Cepheid, GeneXpert® a Xpert® jsou ochranné známky společnosti Cepheid registrované v USA a dalších zemích.

Nákup tohoto patentu zahrnuje omezenou, nepřevoditelnou licenci podle amerického patentu č. 7,449,289, jehož vlastníkem je společnost GeneOhm Sciences Canada, Inc (dceřiná společnost společnosti Becton, Dickinson and Company), na používání tohoto výrobku pro in vitro diagnostické použití s přístrojem GeneXpert®. Žádné právo podle amerického patentu č. 7,449,289 se nepřevádí, výslovně, jako následek ani na základě právní překážky k použití tohoto produktu pro jakýkoli jiný účel.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

NÁKUPEM TOHOTO PRODUKTU SE NA KUPUJÍCÍHO PŘEVÁDÍ NEPŘEVODITELNÉ PRÁVO PRODUKT POUŽÍVAT V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. NEPŘEVÁDÍ SE ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA, A TO VÝSLOVNĚ, NEPŘÍMO ANI PODLE ZÁSADY ESTOPPEL. DÁLE SE S PRODEJEM TOHOTO PRODUKTU NEPŘEVÁDÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA OPAKOVANÝ PRODEJ.

© 2011-2021 Cepheid. Všechna práva vyhrazena.

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

1 Vlastnický název

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2 Běžný nebo obvyklý název

Xpert MRSA/SA SSTI

3 Určené použití

Test infekce kůže a měkkých tkání Cepheid Xpert[®] MRSA/SA (test Xpert MRSA/SA SSTI) prováděný v systému GeneXpert[®] Dx je kvalitativní *in vitro* diagnostický test určený k detekci *Staphylococcus aureus* (SA) a methicilin-rezistentního *Staphylococcus aureus* (MRSA) ze stěrů infikované kůže a měkké tkáně. Test využívá automatickou polymerázovou řetězovou reakci v reálném čase (PCR) k detekci DNA MRSA/SA. Test Xpert MRSA/SA SSTI je indikován k použití společně s dalšími laboratorními testy, jako je mikrobiologická kultivace, a klinickými údaji, které má lékař k dispozici, jako pomůcka při detekci MRSA/SA z infikované kůže a měkké tkáně. Test Xpert MRSA/SA SSTI není určen ke sledování léčby infekcí MRSA/SA. Souběžné provádění kultivace SA a MRSA jsou nutné k odhalení mikroorganismů pro testování susceptibility nebo epidemiologické typování.

4 Souhrn a vysvětlení

Staphylococcus aureus (SA) je dobře zdokumentovaný lidský oportunistický patogen a hlavní nozokomiální patogen, který způsobuje celou řadu onemocnění. Mezi tato onemocnění patří infekce kůže a měkkých tkání, včetně vředů a boláků a infekce pooperačních ran na různých místech. Jako nozokomiální patogen je *S. aureus* hlavní příčinou morbiditu a mortality. Infekce způsobené *S. aureus* jsou často akutní a pyogenní a pokud nejsou léčeny, mohou se rozšířit do okolní tkáně nebo bakterémií metastázují (zasahují další orgány). Některé ze závažnějších infekcí způsobených *S. aureus* jsou bakterémie, pneumonie, osteomyelitida, akutní endokarditida, syndrom toxického šoku, otrava z jídla, myokarditida, perikarditida, cerebritida, meningitida, chorioamnionitida, syndrom opažené kůže a abscesy svalů, urogenitálního traktu, centrálního nervového systému a různých břišních orgánů.¹

Na začátku 50. let minulého století pořízování a šíření beta-laktamázu produkujících plazmidů zmařilo účinnost penicilinu pro léčbu infekcí *S. aureus*. V r. 1959 byl uveden na trh methicilin, syntetický penicilin. V r. 1960 však byly identifikovány methicilin-rezistentní kmeny *S. aureus*. Bylo zjištěno, že to bylo v důsledku skutečnosti, že *S. aureus* získal gen *mecA*. Dnes je MRSA v USA příčinou přibližně 25 % nozokomiálních infekcí a přibývají zprávy o komunitně získaném MRSA, způsobujícím závažnou morbiditu a mortalitu. U bakterémií způsobených MRSA a methicilin-senzitivním *S. aureus* (SA) byly hlášeny mortality 33 % (MRSA) a 16 % (SA). Také se zvyšují obavy ohledně nákladů na léčbu infekcí MRSA. Ve snaze o omezení šíření těchto infekcí jsou ve zdravotnických zařízeních vyvíjeny a implementovány kontrolní strategie a zásady. Kontrola MRSA je hlavním zaměřením většiny nemocničních programů pro kontrolu infekce. V současné době je standardní metodou detekce MRSA a SA kultivace, která je velice pracná a ke generování definitivního výsledku může vyžadovat několik dní.^{2,3,4,5,6,7}

5 Princip postupu

Systémy GeneXpert automatizují a integrují purifikaci vzorků, amplifikaci nukleových kyselin a detekci cílové sekvence v jednoduchých nebo komplexních vzorcích pomocí PCR rozborů v reálném čase. Systémy sestávají z přístroje, osobního počítače a předem načteného softwaru pro zpracování testů a zobrazení výsledků. Systémy vyžadují použití jednorázových kazet, které obsahují reagenty PCR a ve kterých probíhá proces PCR. Protože kazety jsou uzavřené a soběstačné, minimalizuje se tak zkřížená kontaminace mezi vzorky. Plný popis systémů naleznete v příslušné *Příručce obsluhy pro GeneXpert Dx (GeneXpert Dx Operator Manual)* nebo *Příručce obsluhy pro GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity Operator Manual)*.

Test Xpert MRSA/SA SSTI obsahuje reagenty pro detekci MRSA a SA a dále kontrolu zpracování vzorků (SPC) ke kontrole adekvátního zpracování cílové bakterie a sledování přítomnosti inhibitorů PCR reakce. SPC také zajišťuje vhodnost podmínek PCR reakce (teploty a času) pro reakci amplifikace a funkčnost reagentů PCR. Kontrolní systém sondy (PCC) ověřuje rehydrataci reagentů, plnění PCR zkumavky v kazetě, neporušenost sondy a stabilitu barviva.

Primery a sondy testu Xpert MRSA/SA SSTI detekují vlastnické sekvence bílkoviny A stafylokoků (*SpA*), gen rezistentní vůči methicilinu (*mecA*) a chromozom stafylokokové kazety (*SCCmec*) vložené do SA chromozomálního *attB* místa.

6 Reagenty a přístroje

6.1 Dodávané materiály

Souprava Xpert MRSA/SA SSTI obsahuje dostatečné množství reagentů pro zpracování 10 vzorků nebo vzorků pro kontrolu kvality. Obsah soupravy:

Kazety Xpert MRSA/SA SSTI s integrovanými reakčními zkumavkami	10
• Perlička 1, perlička 2 a perlička 3 (sušené mrazem)	1 v každé kazetě
• Reagenty 1	3,0 ml v každé kazetě
• Reagenty 2 (hydroxid sodný)	3,0 ml v každé kazetě
Xpert MRSA/SA SSTI sáček s eluční reagenty	10 x 2,0 ml na sáček
• Eluční reagenty (guanidinium thiokyanát)	
CD	1 v každé soupravě
• Soubor definice analýzy (ADF) • Pokyny k importu ADF do GX softwaru • Návod k použití (příbalová informace)	

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

Poznámka Hovězí sérový albumin (BSA) v perličkách v tomto produktu byl vyroben výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států amerických. Zvířata nebyla krmena bílkovinami pocházejícími z přežvýkavců či jiných zvířat; zvířata prošla testy ante-mortem i post-mortem. V průběhu zpracování nedocházelo k žádnému směšování materiálů s jinými zvířecími materiály.

6.2 Skladování a manipulace

- Kazety a reagenty testu Xpert MRSA/SA SSTI skladujte při teplotách 2 °C–28 °C.
- Nepoužívejte reagenty nebo kazety s prošlým datem expirace.
- Kazetu neotevírejte, pokud nejste připraveni k provedení testu.
- Nepoužívejte reagenty, které jsou zakalené nebo jinak zabarvené.

7 Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

- Přístrojový systém GeneXpert (katalogové číslo se liší podle konfigurace): Přístroj GeneXpert, počítač s vlastnickou verzí softwaru GeneXpert 4.3 nebo vyšší, ruční skener čárového kódu a příručka uživatele.
- Tiskárna: Pokud požadujete tiskárnu, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid a sjednejte si nákup doporučené tiskárny.
- Zařízení pro odběr vzorků Cepheid Sample Collection Device (900-0370) nebo ekvivalentní Copan
- Míchačka Vortex
- Jednorázové přenosové pipety
- Sterilní gáza

8 Dostupné materiály, které nejsou součástí dodávky

KWIK-STIK™ společnosti Microbiologics, katalogové č. 0158MRSA a katalogové č. 0360SA jako externí pozitivní kontroly a č. 0371MSSE (methicilin-senzitivní *Staphylococcus epidermidis*) jako externí negativní kontrola.

9 Varování a bezpečnostní upozornění

- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet a reagensů, zacházejte jako se schopnými přenosu infekčních agens. Protože často není možné vědět, které vzorky mohou být infekční, se všemi biologickými vzorky je třeba zacházet se standardními bezpečnostními opatřeními. Pokyny pro manipulaci se vzorky jsou k dispozici od center pro kontrolu a prevenci onemocnění⁸ USA (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) a od Institutu pro klinické a laboratorní standardy (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁹
- Ve smíšené kultuře obsahující MRSA/SA a další mikroorganismy (např. gramnegativní bakterie, kvasinky) mohou být výsledky falešně negativní nebo různé v závislosti na koncentraci přítomného MRSA/SA, obzvláště, pokud koncentrace MRSA/SA je blízko LoD testu.
- Při práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky dodržujte bezpečnostní postupy vašeho zdravotnického zařízení.
- Test Xpert MRSA/SA SSTI může detekovat DNA MRSA a/nebo SA z neživotoschopných mikroorganismů. Pravděpodobnost, že k tomu dojde, se zvyšuje u pacientů užívajících antibiotika.
- Test Xpert MRSA/SA SSTI neposkytuje výsledky pro antimikrobiální susceptibilitu. Pro kultivaci a provedení testu susceptibility je vyžadován další čas.
- Nenahrazujte reagentie testu Xpert MRSA/SA SSTI jinými reagentii.
- Neotevírejte víko kazety testu Xpert MRSA/SA SSTI kromě přidávání vzorku a reagentie nebo provedení testu.
- Nepoužívejte kazetu, která po přidání vzorku a reagentie upadla nebo byla protřepána.
- Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.
- Každá jednorázová kazeta testu Xpert MRSA/SA SSTI se používá ke zpracování jednoho testu. Použité kazety nepoužívejte opakovaně.
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je nutné považovat za schopné přenosu infekčních agens a vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagentií dodržujte postupy vašeho zdravotnického zařízení pro ekologickou likvidaci odpadu. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky chemického nebezpečného odpadu vyžadujícího dodržování specifických národních nebo regionálních postupů pro likvidaci. Pokud národní nebo regionální předpisy neobsahují jasné pokyny ke správné likvidaci, biologické vzorky a použité kazety je třeba likvidovat podle pokynů Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) k manipulaci se zdravotnickým odpadem.
- Víko kazety neotevírejte, pokud nejste připraveni k provedení testu.

10 Chemická nebezpečí^{17,18}

- Piktogram pro nebezpečí UN GHS: 
- Signální slovo: VAROVÁNÍ
- Věty o nebezpečnosti podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN

- Zdraví škodlivý při požití
- Dráždí kůži.
- Způsobuje vážné podráždění očí.
- **Pokyny pro bezpečné zacházení podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN**
 - **Prevence**
 - Po manipulaci důkladně omyjte.
 - Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte.
 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí.
 - Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
 - **Reakce**
 - **PŘI STYKU S KŮŽÍ:** Omyjte velkým množstvím vody a mýdla.
 - Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím ho vyperte.
 - Konkrétní pokyny pro ošetření najdete v doplňkových informacích o první pomoci.
 - Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
 - **PŘI ZASAŽENÍ OČÍ:** Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazený, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
 - Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
 - **PŘI POŽITÍ:** Necítíte-li se dobře, okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
 - Vypláchněte ústa.
 - **Skladování a likvidace**
 - Obsah a/nebo nádobu zlikvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a/nebo mezinárodními předpisy.

11 Odběr, přeprava a skladování vzorků

Stěry infekčních vzorků kůže a měkkých tkání lze odebírat pomocí odběrového zařízení pro vzorky Cepheid podle standardních postupů zdravotnického zařízení uživatele. Stěry vzorků se vloží do plastové přepravní zkumavky (doporučuje se kapalně Stuartsovo médium, odběrové zařízení pro vzorky Cepheid nebo Copan), skladují se při pokojové teplotě a pošlou se do testovací oblasti GeneXpert ke zpracování nejpozději následující den. Zbývající netestované vzorky stěrů pro mikrobiální kultivaci se vloží do vhodných přepravních systémů a kultivují se do 4 dnů. Pokud nebudou odeslány další den, musí se vzorky přepravovat na ledu. Alternativně se stěry pro testování mohou skladovat při teplotě 2 °C-8 °C až 5 dnů.

12 Mirkobiální kultura

U kultivačních metod SSTI postupujte podle současných laboratorních standardních provozních postupů. Pro kultivaci se zbývající netestované vzorky stěrů vloží do vhodných přepravních systémů a kultivují se do 4 dnů.

13 Postup

13.1 Příprava kazety

Důležité Test zahajte do 15 minut od přidání reagensů do kazety.

Přidejte vzorek a eluční reagensii do kazety následujícím způsobem:

1. Vyjměte kazetu a eluční reagensii z balení.
2. Vyjměte stěr z přepravní nádoby.

Poznámka Se stěrem manipulujte pomocí sterilní gázy, aby se na minimum omezilo riziko kontaminace.

3. Stěr vložte do zkumavky obsahující eluční reagensii a přelomte dřík.
4. Zavřete víčko zkumavky s eluční reagensii a promíchejte vysokou rychlostí na třepače 10 sekund.

5. Otevřete víko kazety. Pomocí sterilní přenosové pipety přeneste celý obsah eluční reagentie do vzorkové komůrky kazety testu Xpert MRSA/SA SSTI.
6. Zavřete víko kazety.



Obrázek 1. Kazeta Xpert MRSA/SA SSTI (pohled shora)

13.2 Spuštění testu

Důležité Před spuštěním testu se ujistěte, že do softwaru byl importován soubor definice analýzy pro test Xpert MRSA/SA SSTI.

Tato část uvádí výchozí kroky k provozu přístrojového systému GeneXpert. Podrobné pokyny viz *Příručka obsluhy systému GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* nebo *Příručka obsluhy systému GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*.

1. Zapněte přístrojový systém GeneXpert :

Poznámka Postup se může lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

- Pokud používáte přístroj GeneXpert Dx, nejprve zapněte přístroj a poté počítač. Software GeneXpert se spustí automaticky, nebo může vyžadovat dvojité kliknutí na ikonu zástupce softwaru GeneXpert Dx na pracovní ploše systému Windows®.
 - nebo
 - Pokud používáte přístroj GeneXpert Infinity, zapněte přístroj. Software GeneXpert se spustí automaticky, nebo může vyžadovat dvojité kliknutí na ikonu zástupce softwaru Xpertise na pracovní ploše systému Windows®.
2. Pomocí svého uživatelského jména a hesla se přihlaste do softwaru systému přístroje GeneXpert .
 3. V okně systému GeneXpert klikněte na **Vytvořit test (Create Test)**. (GeneXpert Dx) nebo **Objednávky (Orders)** a **Objednat test (Order Test)** (Infinity). Otevře se okno Vytvořit test (Create Test).
 4. Naskenujte ID pacienta (Patient ID) (volitelné). Pokud ID pacienta (Patient ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID pacienta (Patient ID) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně Zobrazení výsledků (View Results).
 5. Oskenujte nebo zadejte ID vzorku (Sample ID). Pokud ID vzorku (Sample ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID vzorku (Sample ID) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně Zobrazení výsledků (View Results).
 6. Naskenujte čárový kód na kazetě Xpert MRSA/SA SSTI. Pomocí informací z čárového kódu software automaticky vyplní následující pole: Výběr rozboru (Select Assay), ID šarže reagentie (Reagent Lot ID), Sériové číslo kazety (Cartridge SN) a Datum expirace (Expiration Date).

Poznámka Pokud se čárový kód na kazetě Xpert MRSA/SA SSTI nenaskenuje, opakujte test s novou kazetou.

7. Klikněte na **Spustit test (Start Test)**. (GeneXpert Dx) nebo **Odeslat (Submit)** (Infinity). Do zobrazeného dialogového okna zadejte své heslo.
8. U systému GeneXpert Infinity vložte kazetu na dopravníkový pás. Kazeta se založí automaticky, proběhne test a použitá kazeta vypadne do odpadové nádoby.
- nebo

U přístroje GeneXpert Dx:

- a. Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a založte kazetu.
- b. Zavřete dvířka. Spustí se test a zelené světlo přestane blikat. Po dokončení testu světlo zhasne.
- c. Před otevřením dvířek modulu a vyjmutím kazety počkejte, až systém uvolní zámek dvířek.
- d. Použité kazety zlikvidujte do vhodných odpadových nádob na vzorky.

14 Zobrazení a tisk výsledků

Podrobnější pokyny k zobrazení a tisku výsledků viz Příručka obsluhy systému *GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* nebo *Příručka obsluhy systému GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*.

1. Kliknutím na ikonu **Zobrazení výsledků (View Results)** zobrazíte výsledky.
2. Po dokončení testu klikněte na tlačítko **Zpráva (Report)** v okně Zobrazení výsledků (View Results) pro zobrazení a/ nebo generování PDF souboru zprávy.

15 Kontrola kvality

15.1 Vestavěné kontroly kvality

Každý test obsahuje kontrolu zpracování vzorku (SPC nebo BG3 na obrazovce zobrazení výsledků pro uživatele na úrovni správce) a systém kontroly sondy (PCC).

- **Kontrola zpracování vzorku (SPC)** – zajišťuje správné zpracování vzorku. SPC obsahuje spóry *Bacillus globigii* ve formě suché crusty spór, která je obsažena v každé kazetě pro ověření adekvátního zpracování vzorku testem Xpert MRSA/SA SSTI. SPC ověřuje, zda došlo k lýze *Staphylococcus aureus*, zda jsou přítomny mikroorganismy a zda je zpracování vzorku adekvátní. Tato kontrola dále detekuje se vzorkem spojenou inhibici analýzy PCR v reálném čase, zajišťuje vhodné podmínky PCR reakce (teplota a čas) pro amplifikační reakci a zjišťuje, zda PCR reagentie jsou funkční. SPC musí být pozitivní v negativním vzorku a může být negativní nebo pozitivní v pozitivním vzorku. SPC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti.
- **Systém kontroly sondy (PCC)** – Před zahájením PCR reakce měří systém GeneXpert fluorescenční signál ze sond a monitoruje tak rehydrataci perliček, plnění reakční zkumavky, neporušenost sond a stabilitu barviva. Kontrola sondy je úspěšná, když splní předepsaná kritéria pro přijetí.

15.2 Externí kontroly

KWIK-STIK (Microbiologics, katalogové č. 0158MRSA [SCCmec typ II] a katalogové č. 0360SA jako pozitivní kontroly a č. 0371MSSE jako negativní kontrola) se mohou používat pro školení, testování schopností a jako externí kontrola kvality systému GeneXpert. Kmeny MRSA reprezentující jiné typy SCCmec, pokud jsou dostupné, mohou být použity jako další externí pozitivní kontroly ke sledování primerů a sond rozboru, které nejsou přímo kontrolovány v rámci rozboru. Externí kontroly se mohou použít v souladu s akreditujícími institucemi a vládními předpisy, podle toho, co je aplikovatelné. Postupujte podle postupů pro externí kontroly Microbiologics, které jsou uvedeny níže:

1. Otevřete vak v místě zářezu a vyjměte KWIK-STIK.
2. Propíchněte dno ampulky v šálku, aby se uvolnila hydratační kapalina.
3. Přidržíte ampulku ve svislé poloze a poklepem podpořte proudění tekutiny ampulkou do spodní části jednotky obsahující peletu.
4. Pro snazší rozpuštění lyofylovaných buněčných pelety rozdrťte peletu a opatrně propíchněte spodní komůrku.
5. Roztrhněte KWIK-STIK, aby se uvolnil stěr a vložte stěr do zkumavky obsahující eluční reagentii (šroubovací uzávěr).
6. Stěr KWIK-STIK je nyní připravený na test Xpert MRSA/SA SSTI.
7. Pokud externí kontrola kvality nefunguje podle očekávání, opakujte test externí kontroly a/nebo kontaktujte společnost Cepheid a požádejte o pomoc.

Příklady výsledků testů Xpert MRSA/SA SSTI uvádí Obrázek 2 až Obrázek 5.

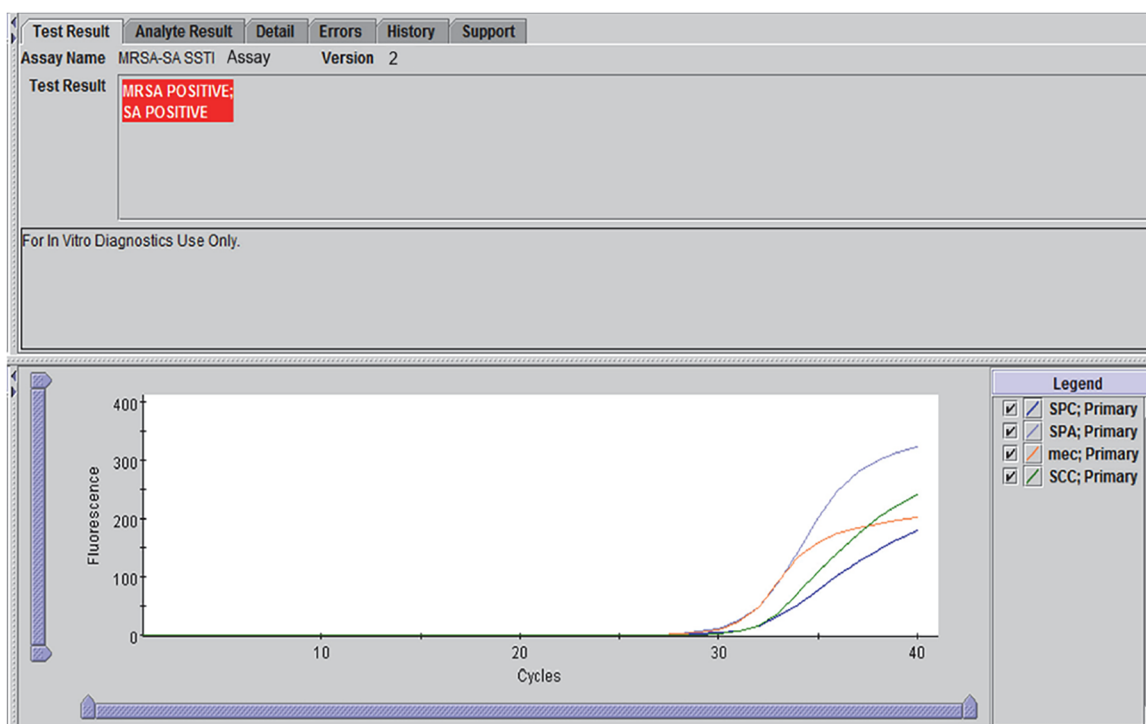
16 Interpretace výsledků

Výsledky jsou interpolovány systémem GeneXpert z naměřených fluorescenčních signálů a vložených výpočetních algoritmů a jsou zobrazeny v okně **Zobrazení výsledků (View Results)** . Možné výsledky:

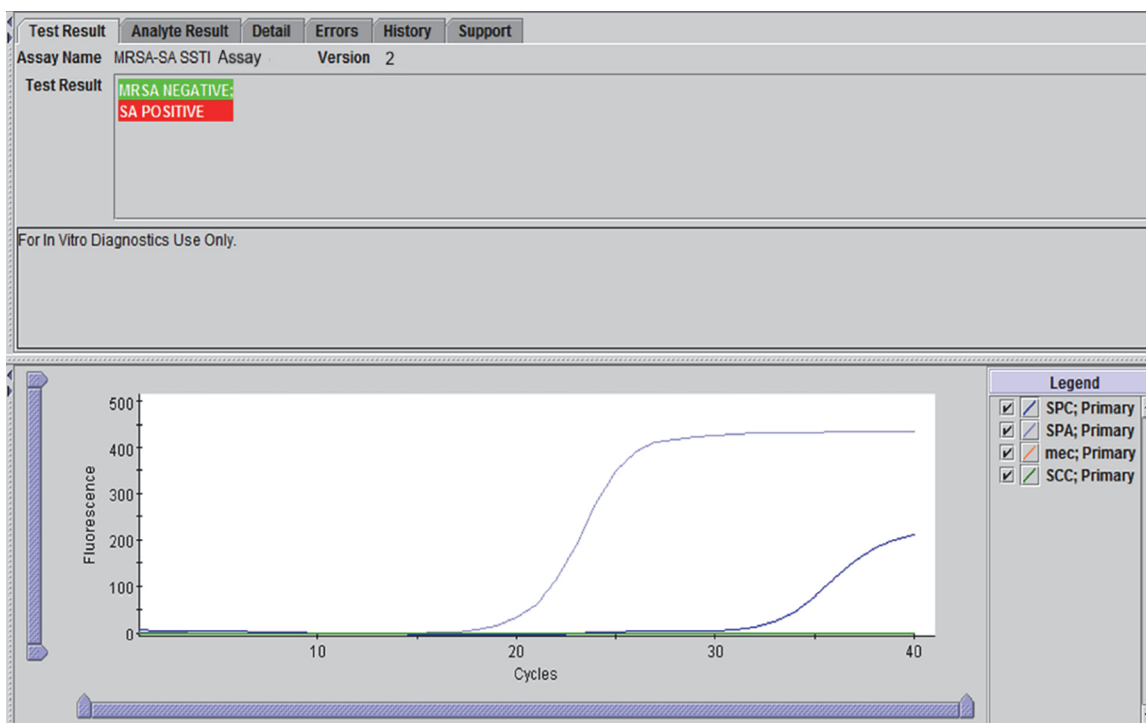
Tabulka 1. Výsledky a interpretace MRSA/SA SSTI

Výsledek	Interpretace
MRSA POZITIVNÍ/SA POZITIVNÍ (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE) Obrázek 2	Test Xpert MRSA/SA SSTI může detekovat DNA MRSA a/nebo SA z neživotaschopných mikroorganismů. Cílové DNA sekvence MRSA jsou detekovány/cílová DNA sekvence SA je detekována. - MRSA POZITIVNÍ (MRSA POSITIVE) — všechny cíle MRSA (<i>SpA</i>, <i>mecA</i> a <i>SCCmec</i>) mají práh cyklu (Ct) v platném rozsahu a koncový parametr nad minimálním nastavením. - SPC – Neuplatňuje se (NA); SPC se ignoruje, protože amplifikace MRSA může konkurovat této kontrole. - Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
MRSA NEGATIVNÍ/SA POZITIVNÍ (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) Obrázek 3	Test Xpert MRSA/SA SSTI může detekovat DNA MRSA a/nebo SA z neživotaschopných mikroorganismů. - Cílové DNA sekvence MRSA nejsou detekovány/cílová DNA sekvence SA je detekována. - SA POZITIVNÍ (SA POSITIVE) — cíl SA (<i>Spa</i>) má Ct v platném rozsahu a koncový parametr nad minimálním nastavením. Cílová DNA <i>SCCmec</i> není detekována, cílová DNA <i>mecA</i> může nebo nemusí být detekována, nebo cílová DNA <i>SCCmec</i> je detekována a cílová dna <i>mecA</i> není detekována („prázdná kazeta“). - SPC – Neuplatňuje se (NA); SPC se ignoruje, protože amplifikace SA může konkurovat této kontrole. - Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné. Pozitivní výsledek testu nemusí nezbytně indikovat přítomnost životaschopných mikroorganismů. Je však presumptivní pro přítomnost MRSA nebo SA.
MRSA NEGATIVNÍ/SA NEGATIVNÍ (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) Obrázek 4	Cílová sekvence DNA <i>Staphylococcus aureus</i> není detekována. SPC splňuje kritéria přijatelnosti. - NEGATIVNÍ (NEGATIVE) — Cílová DNA <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>SpA</i>) není detekována. Cílová DNA <i>mecA</i> může nebo nemusí být detekována, nebo cílová DNA <i>SCCmec</i> může nebo nemusí být detekována. - SPC – ÚSPĚŠNÁ (PASS); SPC má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr nad nastavenou minimální hodnotou. - Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné. Falešně negativní na MRSA (výsledek „MRSA NEGATIVNÍ; SA POZITIVNÍ“ [MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE] namísto „MRSA POZITIVNÍ; SA POZITIVNÍ“ [MRSA POSITIVE; SA POSITIVE]) by mohl vzniknout, pokud jsou ve vzorku přítomny MRSA i SA v poměru MRSA:SA 1:1x10⁶ nebo vyšším. V klinických studiích mělo 5 z 246 pozitivních kultur smíšené infekce MRSA a SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifikoval 3 z 5 smíšených infekcí jako MRSA pozitivní a 2 z 5 jako SA pozitivní/MRSA negativní.

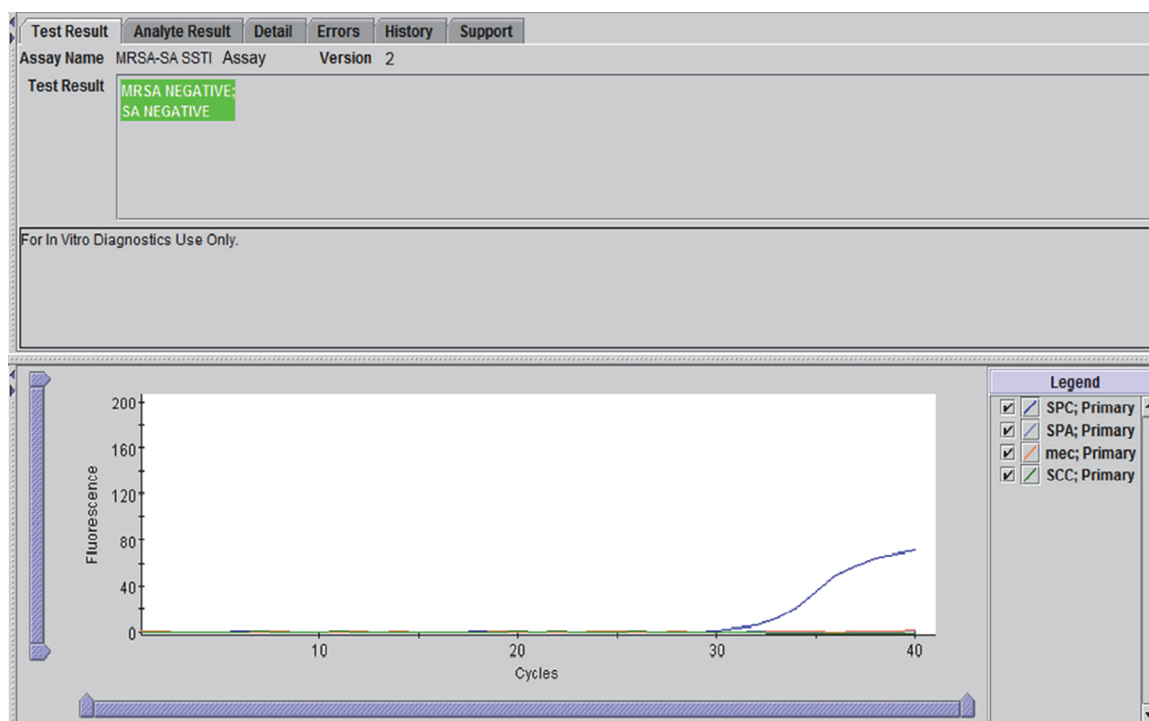
Výsledek	Interpretace
NEPLATNÝ (INVALID) Obrázek 5	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí DNA MRSA/SA nelze stanovit, test opakujte podle pokynů v následující části. SPC nesplňuje akceptační kritéria, vzorek nebyl správně zpracován nebo PCR byla inhibována. • NEPLATNÝ (INVALID) — Přítomnost nebo nepřítomnost DNA <i>Staphylococcus aureus</i> nelze stanovit. • SPC-NEÚSPĚŠNÁ (FAIL) — výsledek cíle SPC je negativní a SPC Ct není v platném rozsahu a koncový parametr je pod minimálním nastavením. • Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
CHYBA (ERROR)	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí DNA MRSA/SA nelze stanovit, test opakujte podle pokynů v následující části. Systém kontroly sondy selhal, což je pravděpodobně způsobeno nesprávně naplněnou reakční zkumavkou, problémem s neporušeností sondy nebo tím, že byly překročeny limity maximálního tlaku. • MRSA – ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • SA – ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • SPC – ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • Kontrola sondy – NEÚSPĚŠNÁ (FAIL)*; jeden nebo více výsledků kontroly sondy bylo neúspěšných. *Pokud byla kontrola sondy úspěšná, chyba je způsobena selháním komponenty systému.
ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí DNA MRSA/SA nelze stanovit, test opakujte podle pokynů v následující části. Nebylo shromážděno dostatečné množství dat k vyprodukování výsledku testu. To může nastat například tehdy, když obsluha zastavila probíhající test. • MRSA – ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • SA – ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • SPC – ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • Kontrola sondy – Neuplatňuje se (NA)



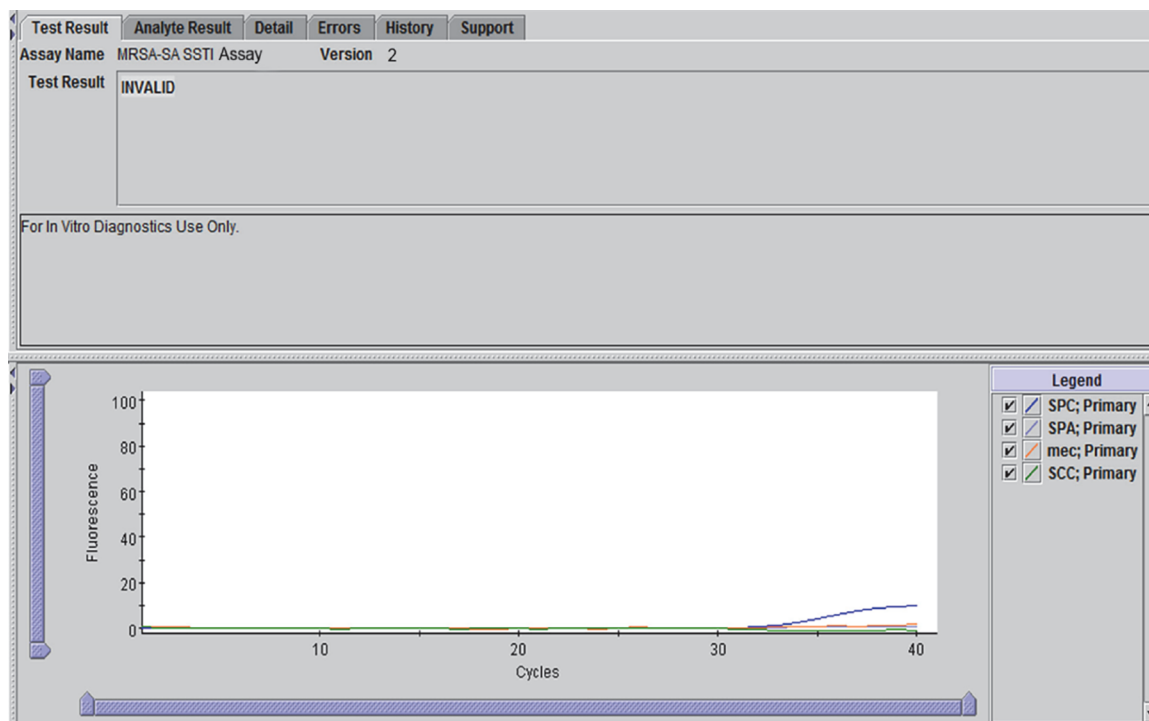
Obrázek 2. Příklad výsledku MRSA pozitivní/SA pozitivní



Obrázek 3. Příklad výsledku MRSA negativní/SA pozitivní



Obrázek 4. Příklad výsledku MRSA negativní/SA negativní



Obrázek 5. Příklad neplatného výsledku

17 Důvody k opakování stanovení

17.1 Důvody k opakování testu

Test opakujte s novou kazetou (kazetu nepoužívejte opakovaně) a s novými reagensiemi. Opakovaný test proveďte do 3 hodin od neurčitěho výsledku.

- Výsledek **NEPLATNÝ (INVALID)** znamená, že selhala kontrola SPC. Vzorek nebyl správně zpracován nebo PCR byla inhibována.
- Výsledek **CHYBA (ERROR)** znamená, že se nezdařila kontrola sondy a test byl přerušen možná z důvodu nesprávně naplněné reakční zkumavky nebo byl detekován problém s neporušeností sond nebo kvůli překročení maximálních tlakových limitů.
- Výsledek **ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)** znamená, že nebylo shromážděno dostatečné množství údajů. Například obsluha zastavila probíhající test.
- Pokud externí kontrola kvality nefunguje podle očekávání, opakujte test externí kontroly a/nebo kontaktujte společnost Cepheid a požádejte o pomoc.

17.2 Postup při opakování testu

Test opakujte s novou kazetou (kazetu nepoužívejte opakovaně) a s novou zkumavkou eluční reagensie.

Provedení opakovaného testu, pokud test opakujete do 3 hodin po obdržení neurčitěho výsledku*:

1. Přeneste zbývající obsah ze vzorkové komůrky do nové eluční reagensie pomocí jednorázové přenosové pipety.
2. Promíchejte na třepače a přidejte celý obsah eluční reagensie do vzorkové komůrky nové kazety testu MRSA/SA SSTI.
3. Zavřete víčko a spusťte nový test.

*Pokud opakovaný test nelze provést do 3 hodin, použijte nový vzorek.

18 Omezení

- Funkčnost testu Xpert MRSA/SA SSTI byla ověřena pouze pomocí postupů uvedených v této příbalové informaci. Úpravy těchto postupů mohou ovlivnit funkčnost testu. Výsledky testu Xpert MRSA/SA SSTI by měly být interpretovány společně s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- Test Xpert MRSA/SA SSTI může detekovat DNA MRSA a/nebo SA z neživotaschopných mikroorganismů. Pravděpodobnost, že k tomu dojde, se zvyšuje u pacientů užívajících antibiotika. V pilotní klinické studii byl poměr falešně pozitivních výsledků (ve vztahu ke kultuře) při detekci SA u pacientů užívajících antibiotika v období 3 týdnů před testem Xpert MRSA/SA 13,8 %. Poměr falešně pozitivních výsledků (ve vztahu ke kultuře) při detekci MRSA u pacientů užívajících antibiotika v období 3 týdnů před testem Xpert MRSA/SA byl 9,5 %.
- Pozitivní výsledek testu nemusí nezbytně indikovat přítomnost životaschopných mikroorganismů. Je však presumptivní pro přítomnost MRSA nebo SA.
- Testování pomocí testu Xpert MRSA/SA SSTI se má používat jako přídavná metoda k dalším dostupným metodám.
- Při nesprávném odběru vzorku, nedodržení doporučených odběrových postupů, nesprávné manipulaci a skladování vzorků, technické chybě, záměně vzorků nebo při příliš nízkém počtu mikroorganismů ve vzorku na to, aby jej mohl test detekovat, může dojít k chybným výsledkům testu. Aby se zabránilo chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat pokyny v této příbalové informaci.
- Protože detekce MRSA a SA závisí na počtu mikroorganismů přítomných ve vzorku, spolehlivé výsledky závisí na správném odběru, správné manipulaci a správném skladování vzorků.
- Mutace nebo polymorfismy v regionech vázání primerů nebo sond mohou ovlivnit detekci nových nebo neznámých variant MRSA, což může vést k falešně negativním výsledkům.
- U vzorků obsahujících MRSA i SA test Xpert MRSA/SA SSTI možná nedetekuje methicilin-rezistentní SA mikroorganismy. (V pilotním klinickém hodnocení test Xpert MRSA/SA SSTI nedetekoval 2 z 5 pozitivních vzorků kultur MRSA v situacích s dokumentovanými smíšenými infekcemi MRSA/SA.)
- Ve smíšené kultuře je LoD MRSA variabilní, když jsou přítomny extrémně vysoké koncentrace SA. Konkurence SA byla pozorována při poměru MRSA:SA 1:1x10⁶. V klinických studiích mělo 5 z 246 pozitivních kultur smíšené infekce MRSA a SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifikoval 3 z 5 smíšených infekcí jako MRSA pozitivní a 2 z 5 jako SA pozitivní/MRSA negativní.
- Inhibice testu MRSA/SA SSTI byla pozorována u následujících látek: Staph antiseptic (5 % hm./obj.), hydrokortison (5 % hm./obj.) a anibakteriální gel na ruce (5 % hm./obj.).

- Vzorky obsahující merkurochrom se nesmějí používat z důvodu jeho fluorescenčního charakteru.
- Test Xpert MRSA/SA SSTI vygeneruje falešně pozitivní výsledek MRSA při testování smíšených infekčních SSTI vzorků obsahujících jak methicilin-rezistentní, koaguláza-negativní *Staphylococcus* (MRCNS), tak i prázdnou kazetu methicilin-senzitivního *Staphylococcus aureus* (SA).
- Z důvodu ředícího faktoru spojeného s postupem opakovaného testování je možné, že MRSA nebo SA pozitivní vzorky velice blízko limitu detekce (LoD) testu Xpert MRSA/SA SSTI mohou po opakovaném testování vykazat falešně negativní výsledek.

19 Interferující látky

Ve výzkumné studii testu Xpert MRSA/SA SSTI bylo pozorováno, že 428 z 848 vzorků obsahovalo krev a 404 obsahovalo jiné nespecifické látky, které mohly potenciálně interferovat s rozbořem (vezměte na vědomí, že některé vzorky obsahovaly více než jeden typ potenciálního kontaminantu). Exaktní Fisherovy testy provedené na datech generovaných ze sčítání s těmito potenciálně interferujícími látkami a bez nich prokázaly, že jejich přítomnost neovlivnila funkci testu.

V neklinické studii byly hodnoceny potenciálně interferující látky, které se mohou vyskytovat v infikovaných klinických vzorcích kůže a měkkých tkání, a to přímo ve vztahu k funkci testu Xpert MRSA/SA SSTI. Potenciálně interferující látky v infikovaných vzorcích kůže a měkkých tkání mohou mimo jiné zahrnovat: krev, hnis, plazmu, lokální masti (antibiotické/antiseptické/snižující bolest), látky odstraňující detrit a tinktury. Tyto látky uvádí Tabulka 2 a Tabulka 3 s účinnými složkami a testovanými koncentracemi. Inhibice testu MRSA/SA SSTI byla pozorována u následujících látek: Staph antiseptic (5 % hm./obj.), hydrokortison (5% hm./obj.) a anibakteriální gel na ruce (5% hm./obj.).

Vzorky obsahující merkurochrom se nesmějí používat z důvodu jeho fluorescenčního charakteru.

Tabulka 2. Testované potenciálně interferující SSTI látky

Látka	Aktivní složka	% testovaných
TET pufr	Kontrola	Kontrola
Buffy Coat (surogát rány)	Leukocyty (1,5e9/ml)	50 % (obj./obj.)
Plná krev (bez MRSA/SA)	Neuplatňuje se	50 % (obj./obj.)
Plazma	Neuplatňuje se	50 % (obj./obj.)
Neosporin	Bacitracin 400 jednotak Polymyxin B 5 000 jednotek Neomycin 3,5 mg	1 % a 5 % (hm./obj.)
StaphA+Septic	Benzethonium Chlorid 0,2 %, Lidokain HCl 2,5 %	1 % a 5 % (hm./obj.)
Hydrokortizon	Hydrokortizon 1 %	1 % a 5 % (hm./obj.)
Boil-Ease	Benzokain 20 %	1 % a 5 % (hm./obj.)
Jodová tinktura	Jód 2 %	50 % (obj./obj.)

Tabulka 3. Testované potenciálně interferující SSTI látky

Látka	Aktivní složka	% testovaných
TET pufr (kontrola)	Kontrola	Kontrola
Mupirocin	Benzethonium Chlorid 0,2 %, Lidokain HCl 2,5 %	5 % (hm./obj.)
Plná krev (bez MRSA/SA)	Neuplatňuje se	50 % (obj./obj.)
Fyziologický roztok	Chlorid sodný 0,65 %	50 % (obj./obj.)
Antibakteriální gel na ruce	Ethylalkohol 62 %	1 % a 5 % (hm./obj.)

Látka	Aktivní složka	% testovaných
Isopropylalkohol 70 %	Isopropylalkohol 70 %	50 % (obj./obj.)

20 Očekávané hodnoty

V klinické studii Xpert MRSA/SA SSTI bylo zahrnuto 848 SSTI vzorků ze čtyř velkých nemocnic z různých míst Spojených států. Počet a procento pozitivních případů zjištěných referenční metodou kultivace, vypočtené podle věkových skupin, uvádí Tabulka 4.

Tabulka 4. Pozorovaná prevalence MRSA a SA podle kultury

Věková skupina	N celkem	MRSA podle kultury		SA podle kultury	
		Počet pozitivních	Pozorovaná prevalence	Počet pozitivních	Pozorovaná prevalence
Věk pod 3 roky	34	11	32,4 %	21	61,8 %
Věk 3 až 18	100	25	25,0 %	55	55,0 %
Věk 19 až 65	614	188	30,6 %	300	48,9 %
Věk 66 a více	100	22	22,0 %	35	35,0 %

21 Funkční charakteristiky

21.1 Klinický výkon

Funkční charakteristiky textu Xpert MRSA/SA SSTI byly stanoveny v prospektivní výzkumné studii prováděné na více pracovištích ve 4 institucích v USA porovnáváním testu Xpert MRSA/SA SSTI s referenční kulturou. Subjekty zahrnovaly osoby, jejichž rutinní péče vyžadovala odebrání stěru z infikované kůže a měkkých tkání na kultivaci.

Od každého subjektu byly odebrány dva stěry. Jeden stěr byl testován testem Xpert MRSA/SA SSTI v zařazovacím centru a druhý stěr byl testován standardní metodou pracoviště a zbývající vzorek byl odeslán do centrální laboratoře pro referenční testování kultur.

V centrální laboratoři byl vzorek přes noc obohacen v sójovém bujónu Trypticase s 6,5 % NaCl. Sójový bujón Trypticase byl poté natřen na destičky s cefoxitinem (u MRSA) a bez cefoxitinu (u SA). Pokud některá nebo obě destičky SA nebo MRSA vykazovaly presumptivní kolonie *S. aureus*, byly kolonie subkultivovány na destičkách s krevním agarem. Potvrzení presumptivně pozitivních kolonií bylo provedeno pomocí katalázy, kagulázy (zkumavkový test) a Gramova barvení. Genem *MecA*-mediovaná rezistence vůči oxacilinu byla hodnocena diskovou difúzní metodou s použitím cefoxitinového disku 30 µg a cut-off 21/22 mm. Pokud byly kultury destiček SA i MRSA určeny jako negativní, archivovaný sójový bujón Trypticase s 6,5 % NaCl byl subkultivován na krevní agar s následujícím potvrzovacím testem na SA/MRSA, jak je uvedeno výše.

Funkčnost testu Xpert MRSA/SA SSTI byla vypočtena ve vztahu k výsledkům referenčních kultur.

21.2 Celkové výsledky

Celkem 848 vzorků bylo testováno na MRSA a SA testem Xpert MRSA/SA SSTI a kultivací.

Mezi 848 případy v kvalifikujícím se datovém setu bylo u 207 subjektů hlášeno užívání antibiotik v období 3 týdnů před odběrem vzorku a u 441 pacientů bylo potvrzeno, že antibiotika neužívali. Ve 200 případech byl stav antibiotik neznámý. Při užívání antibiotik bylo pozorováno statisticky významné zvýšení míry positivity SA s ohledem na výsledky kultivace ($p=0,007$); tento fenomén byl hlášen i v literatuře.^{10, 11, 12, 13, 14} Míra positivity MRSA u kultury se také snížila, i když v menším rozsahu ($p=0,022$). Snížení positivity nebylo pozorováno s testem Xpert MRSA/SA SSTI při užívání antibiotik a v rozboru nebyla pozorována ani inhibice v přítomnosti lokálních antibiotik (viz část 20 Interferující látky). Snížená míra positivity kultur MRSA a SA v přítomnosti antibiotik způsobila vyšší než očekávanou míru falešně pozitivních výsledků s testem Xpert MRSA/SA SSTI.

Pět z 246 pozitivních kultur MRSA mělo smíšené infekce MRSA a SA. Xpert MRSA/SA SSTI identifikoval 3 z 5 smíšených infekcí jako MRSA pozitivní a 2 z 5 jako SA pozitivní/MRSA negativní.

Funkčnost testu Xpert MRSA/SA SSTI shrnuje Tabulka 5 až Tabulka 7.

Tabulka 5. Funkčnost MRSA/SA u subjektů bez antibiotik (v období 3 týdnů před odběrem vzorku) vs. referenční kultura

	Kultura			
	MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/Žádný růst	Celkem
MRSA+	137 ^a	2	6	145
SA+/MRSA-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Celkem	146	85	210	441

^a 1 ze 137 byla smíšená infekce MRSA a SA.

^b 2 ze 3 byly smíšené infekce MRSA a SA.

Procentuální shoda pozitivních (MRSA+) = 93,8; 95% interval spolehlivosti = 88,6-97,1

Procentuální shoda negativních (MRSA+) = 97,3; 95% interval spolehlivosti = 94,7-98,8

Procentuální shoda pozitivních (SA+/MRSA+) = 95,7; 95% interval spolehlivosti = 92,2-97,9

Procentuální shoda negativních (SA+/MRSA+) = 89,5; 95% interval spolehlivosti = 84,6-93,3

Mezi subjekty bez antibiotik v období 3 týdnů před odběrem vzorku test Xpert MRSA/SA SSTI identifikoval 93,8 % MRSA-pozitivních vzorků a 97,3 % MRSA-negativních vzorků ve vztahu k referenční metodě kultivace a 95,7 % SA-pozitivních vzorků a 89,5 % SA-negativních vzorků ve vztahu k referenční metodě kultivace.

Mezi těmito subjekty, které neužívaly antibiotika, 96,8 % (427/441) bylo úspěšných na první pokus s testem Xpert MRSA/SA SSTI. Zbývajících 14 poskytlo při prvním pokusu neurčité výsledky (6 **NEPLATNÝ (INVALID)**, 7 **CHYBA (ERROR)** a 1 **ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)**). Ze 14 neurčitých výsledků na první pokus všech 14 poskytlo výsledek na druhý pokus.

Tabulka 6. Funkčnost MRSA/SA u subjektů s neznámým používáním antibiotik (v období 3 týdnů před odběrem vzorku) vs. referenční kultura

		Kultura			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/Žádný růst	Celkem
Xpert	MRSA+	47 ^a	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Celkem	50	47	103	200

^a 2 ze 47 byly smíšené infekce MRSA a SA

Procentuální shoda pozitivních (MRSA+) = 94,0 %; 95% interval spolehlivosti = 83,5-98,7

Procentuální shoda negativních (MRSA+) = 97,3; 95% interval spolehlivosti = 93,3-99,3

Procentuální shoda pozitivních (SA+/MRSA+) = 96,9; 95% interval spolehlivosti = 91,2-99,4

Procentuální shoda negativních (SA+/MRSA+) = 88,3; 95% interval spolehlivosti = 80,5-93,8

V případech, kdy stav užívání antibiotik v období 3 týdnů před odběrem vzorku nebyl známý, test Xpert MRSA/SA SSTI identifikoval 94,0 % MRSA-pozitivních vzorků a 97,3 % MRSA-negativních vzorků ve vztahu k referenční metodě kultivace a 96,9 % SA-pozitivních vzorků a 88,3 % SA-negativních vzorků ve vztahu k referenční metodě kultivace.

Mezi těmito subjekty s neznámým užíváním antibiotik 97,0 % (194/200) bylo úspěšných na první pokus s testem Xpert MRSA/SA SSTI. Zbývajících 6 poskytlo při prvním pokusu neurčité výsledky (2 **NEPLATNÝ (INVALID)**, 3 **CHYBA (ERROR)** a 1 **ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)**). Ze 6 neurčitých výsledků na první pokus všech poskytlo výsledek na druhý pokus.

Tabulka 7. Funkčnost MRSA/SA u subjektů s neznámým užíváním antibiotik (v období 3 týdnů před odběrem vzorku) vs. referenční kultura

Kultura					
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/ Žádný růst	Celkem
Xpert	MRSA+	44	2	10	56
	SA+/MRSA-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Celkem	50	34	123	207

Procentuální shoda pozitivních (MRSA+) = 88,0; 95% interval spolehlivosti = 75,7-95,5

Procentuální shoda negativních (MRSA+) = 92,4; 95% interval spolehlivosti = 87,0-96,0

Procentuální shoda pozitivních (SA+/MRSA+) = 95,2; 95% interval spolehlivosti = 88,3-98,7

Procentuální shoda negativních (SA+/MRSA+) = 76,4; 95% interval spolehlivosti = 67,9-83,6

Mezi subjekty se známým užíváním antibiotik v období 3 týdnů před odběrem vzorku test Xpert MRSA/SA SSTI identifikoval 88,0 % MRSA-pozitivních vzorků a 92,4 % MRSA-negativních vzorků ve vztahu k referenční metodě kultivace a 95,2 % SA-pozitivních vzorků a 76,4 % SA-negativních vzorků ve vztahu k referenční metodě kultivace.

Mezi těmito subjekty se známým užíváním antibiotik 96,1 % (199/207) těchto kvalifikujících se vzorků bylo úspěšných na první pokus s testem Xpert MRSA/SA SSTI. Zbývajících 8 poskytlo při prvním pokusu neurčité výsledky (5 **NEPLATNÝ (INVALID)** a 3 **CHYBA (ERROR)**). Z 8 neurčitých výsledků na první pokus všech poskytlo výsledek na druhý pokus.

21.3 Varianty prázdné kazety

Aby byl izolát testem Xpert MRSA/SA SSTI identifikován jako MRSA pozitivní, musí být pozitivní také test na *SpA*, stejně jako test na *mecA* a *SCCmec*. Izolát pozitivní na *SpA* a *SCCmec*, ale ne na *mecA*, je hlášený jako SA, protože je methicilin-senzitivní. Tato situace může nastat, když je ta část prvku *SCCmec*, která je nositelem *mecA*, vyříznuta, ale konce tohoto mobilního prvku zůstanou na místě a vytvářejí pozitivní signál *SCCmec*. Těmto izolátům se někdy říká „varianty prázdné kazety“ a nejsou v klinickém prostředí neobvyklé. Význam těchto izolátů je v tom, že potenciálně zmatou analýzu na MRSA, která nedetekuje přímo gen *mecA*. Test Xpert MRSA/SA SSTI je určen pro správnou identifikaci těchto variant jako SA.

Mezi kvalifikujícími se vzorky obsaženými v datové analýze prezentované v této zprávě celkem 16 izolátů odpovídalo profilu prázdné kazety, což mělo za následek pozitivní výsledky testu *SpA* a *SCCmec*, ale žádnou detekci *mecA* (Ct = 0), jak ukazuje Tabulka 8. Patnáct (15) ze 16 bylo ověřeno jako skutečně MRSA-negativní izoláty ve vztahu ke kultuře a 14 ze 16 bylo ověřeno jako skutečně SA-pozitivní izoláty ve vztahu ke kultuře. Jeden izolát byl podle kultury identifikován jako MRSA a 2 izoláty byly podle kultury MRSA negativní i SA negativní.

Tabulka 8. Funkčnost MRSA/SA SSTI vs. referenční kultura — varianty prázdné kazety

Č. subjektu	Výsledek Xpert	SpA (Ct)	mecA (Ct)	SCCmec (Ct)	Kultura	XPert vs. kultura	
						MRSA	SA
1	SA	23,6	0	26,0	SA	TN	TP
2	SA	14,7	0	16,5	SA	TN	TP
3	SA	20,5	0	34,0	SA	TN	TP
4	SA	18,4	0	21,0	SA	TN	TP
5	SA	15,6	0	28,4	MRSA	FN	TP
6	SA	17,2	0	31,6	SA	TN	TP
7	SA	34,1	0	35,6	Neg.	TN	FP
8	SA	29,1	0	33,0	SA	TN	TP
9	SA	12,7	0	23,5	SA	TN	TP
10	SA	18,2	0	27,6	SA	TN	TP
11	SA	18,4	0	22,0	SA	TN	TP
12	SA	25,5	0	27,7	SA	TN	TP
13	SA	20,0	0	22,1	Neg.	TN	FP
14	SA	26,0	0	28,3	SA	TN	TP
15	SA	23,9	0	25,7	SA	TN	TP
16	SA	19,9	0	34,0	SA	TN	TP

22 Analytický výkon

22.1 Studie analytické specifity - křížové reaktivity

Sto pět (105) kmenů bylo odebráno, kvantifikováno a testováno testem Xpert MRSA/SA SSTI. 98 kultur ze sbírky American Type Culture Collection (ATCC) a 7 kmenů ze zdroje Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA) představuje druhy phylogenticky spřízněné se *Staphylococcus aureus* nebo ty, se kterými se můžeme setkat v nemocničním prostředí.

Byly mezi nimi methicilin-senzitivní, koaguláza-negativní stafylokoky (29) a methicilin-rezistentní, koaguláza-negativní stafylokoky (9). Testované mikroorganismy byly identifikovány buď jako gram-pozitivní (74), gram-negativní (28) nebo jako kvasinky (3). Mikroorganismy byly dále klasifikovány buď jako aerobní (95) nebo anaerobní (10).

Dva (2) nebo více replikátů každého izolátu bylo testováno při 1,7-3,2 jednotkách McFarland. Za podmínek této studie byly všechny izoláty hlášeny jako MRSA negativní a SA negativní; test Xpert MRSA/SA SSTI nedetekoval žádný z izolátů. Ve studii byly zahrnuty pozitivní a negativní kontroly. Analytická specifita byla 100 %.

22.2 Vyhodnocení kmenů BORSA

Bylo testováno sedm (7) dobře charakterizovaných hraničně oxacilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* (BORSA), včetně jedné zjevně „prázdné kazety“ (viz výše). Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* je rezistentní na všechna β-laktamová antibiotika prostřednictvím alternativního penicilin-vázacího proteinu PBP2a kódovaného v *mecA*¹⁵. Kmeny BORSA jsou *mecA* negativní, ale vykazují minimálně inhibující koncentraci (MIC) oxacilinu ≥ 2 a ≤ 8 µg/ml. To je obzvláště cenné k rozlišení MRSA od BORSA, aby se zabránilo zbytečnému a nevhodnému používání vancomycinu a preventivním neodůvodněným izolačním opatřením u pacientů infikovaných kmenem susceptibilním na β-laktam¹⁶.

V podmínkách této studie bylo všech 7 izolátů BORSA (včetně zřejmého izolátu „prázdné kazety“) hlášeno jako MRSA negativní/SA pozitivní při vysokých i nízkých buněčných koncentracích při použití testu Xpert MRSA/SA SSTI. Nebyly hlášeny žádné *mecA* signály. Tyto výsledky dokazují, že kmen BORSA bude správně identifikován jako MRSA negativní/SA pozitivní a nebude hlásit falešně pozitivní výsledek testu MRSA v testu Xpert MRSA/SA SSTI.

22.3 Analytická citlivost

Studie limitu detekce

Byly provedeny studie pro stanovení 95% intervalů spolehlivosti (CI) pro analytický limit detekce (LoD) buněk *Staphylococcus aureus* (SA) a methicilin-rezistentních buněk *Staphylococcus aureus* (MRSA) naředěných v surogátní matici rány lidského původu. Surogátní matice rány sestávala z leukocytárního (WBC) koncentráту připraveného z plně krve centrifugací. Tato matice také obsahovala erytrocyty (RBC) a plazmu a zanedbatelné množství antikoagulantu (CPD nebo CPDA-1). Limit detekce se definuje jako nejnížší koncentrace kolonizujících jednotek (CFU) na vzorek, kterou lze reprodukovatelně odlišit od negativních vzorků s 95% spolehlivostí, nebo nejnížší koncentrace, při které bylo 19 z 20 replikátů pozitivních.

V případě MRSA bylo hodnoceno 20 replikátů u každé testované koncentrace MRSA (CFU/stěr) 6 individuálních izolátů představujících SCCmec typy I, II, III, IVa, V a VI. V hodnocení pulzní gelovou elektroforézou (PFGE) byly zastoupeny kmeny USA100 (nejobvyklejší nemocniční kmen) a USA400 (jeden z nejběžnějších komunitních kmenů).

V případě SA bylo hodnoceno 20 replikátů u každé testované koncentrace SA (CFU/stěr) 3 individuálních SA izolátů. Byly zastoupeny USA typy USA900 a USA1200.

Interval odhadu a interval spolehlivosti byly stanoveny pomocí logistické regrese s daty (počet pozitivních výsledků na počet replikátů na každé úrovni) v celém rozsahu testovaných CFU/stěr. Intervaly spolehlivosti byly stanoveny pomocí odhadů maximální pravděpodobnosti na parametrech logistického modelu pomocí matice variance-kovariance velkého vzorku. Odhady bodu LoD a 95% horní a dolní interval spolehlivosti (CI) pro každý SA a každý testovaný typ MRSA SCCmec shrnuje Tabulka 9 a Tabulka 10.

Tabulka 9. 95% intervaly spolehlivosti pro analytický LoD - SA

SA - ID kmene	PFGE	LoD (CFU/stěr)	Dolní 95% CI	Horní 95% CI
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	Není známo	123	97	188

Tabulka 10. 95% intervaly spolehlivosti (CI) pro analytický LoD - MRSA

MRSA - ID kmene	Typ SCCmec	PFGE	LoD (CFU/stěr)	Dolní 95% CI	Horní 95% CI
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	Není známo	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Výsledky této studie naznačují, že test Xpert MRSA/SA SSTI vyprodukuje pozitivní výsledek SA v 95 % případů s 95% spolehlivostí u stěru z rány obsahujícího 150 CFU a pozitivní výsledek MRSA v 95 % případů s 95% spolehlivostí u stěru z rány obsahujícího 300 CFU.

Testem Xpert MRSA/SA SSTI bylo testováno sto dvacet jedna (121) dalších kmenů *Staphylococcus aureus*. Kultury rostly přes noc v médiu Brain Heart Infusion (BHI) a byly upraveny na 0,5 McFarland jednotek. Všechny kmeny byly testovány v triplicátech pomocí 100 µl kultur dále ředěných 100 tisíckrát na jednu milióntinu.

Kmeny MRSA (78) a SA (43) byly vybrány tak, aby široce zastupovaly rozsah genetické diverzity druhů *Staphylococcus aureus* na základě phylogenetické struktury. Volby reprezentují primární linie s důrazem na specifické klonální komplexy, ve kterých je MRSA převážně pozorován. Byly zahrnuty linie obsahující MRSA a SA i linie obsahující pouze SA.

Test Xpert MRSA/SA SSTI správně identifikoval 116 ze 121 kmenů. 5 nesouhlasných (diskordantních) kmenů bylo charakterizováno katalázou, koagulázou (zkumavkový test) a Gramovým barvením. Genem *MecA*-mediovaná rezistence vůči oxacilinů byla hodnocena diskovou difúzní metodou s použitím cefoxitinového disku 30 µg a cut-off průměru 21/22 mm.

Tři (3) ze 78 kmenů MRSA byly testem Xpert MRSA/SA SSTI hlášeny jako MRSA negativní/SA pozitivní. Další charakterizace naznačuje, že tyto kmeny nejsou rezistentní a byly správně hlášeny jako MRSA negativní; SA pozitivní.

Dva (2) ze 43 kmenů SA byly testem Xpert MRSA/SA SSTI hlášeny jako MRSA pozitivní/SA pozitivní. Další charakterizace naznačuje, že tyto kmeny jsou rezistentní a byly správně hlášeny jako MRSA pozitivní/SA pozitivní.

Podle očekávání byl každý z 12 známých izolátů USA300 správně hlášen jako MRSA pozitivní a SA pozitivní.

23 Vyhodnocení variant prázdné kazety

Dvacet dva (22) izolátů *Staphylococcus aureus* identifikovaných jako „varianty prázdné kazety“ bylo testováno testem Xpert MRSA/SA SSTI. Kultury byly kultivovány přes noc a upraveny na 0,5 McFarland jednotek. Všechny kmeny byly testovány z kultur dále naředěných 100krát (vysoké) a 100 tisíckrát (nízké).

Test Xpert MRSA/SA SSTI správně identifikoval všech 22 izolátů jako MRSA negativní a SA pozitivní. V obou testovaných buněčných koncentracích byly hlášeny Ct pouze pro cíle *SpA* a *SCCmec*. Nebyly hlášeny žádné *mecA* Ct.

24 Studie kontaminace z přenosu

Byla provedena studie, jejímž účelem bylo prokázat, že jednorázové soběstačné kazety GeneXpert zabraňují kontaminaci v cyklu negativních vzorků přenosem po vysoce pozitivních vzorcích ve stejném modulu GeneXpert. Studie obsahovala negativní vzorek zpracovaný ve stejném modulu GeneXpert bezprostředně po vysoce pozitivním vzorku MRSA (zhruba 10^7 CFU/test). To bylo opakováno 20krát na dvou modulech GeneXpert, celkem tedy 42 cyklů. Nebyly objeveny žádné důkazy kontaminace z přenosu. Všechny 21 pozitivních vzorků bylo správně hlášeno jako MRSA pozitivní/SA pozitivní. Všechny 21 negativních vzorků bylo správně hlášeno jako MRSA negativní/SA negativní.

25 Reprodukovatelnost

Panel 10 vzorků s různými koncentracemi SA, MRSA a *Staphylococcus epidermidis* (negativní) byly testovány v duplikátu po 10 různých dní na každém ze tří pracovišť (10 vzorků x 2krát denně x 10 dní x 3 pracoviště). Na každém ze 3 testovacích pracovišť byla použita jedna šarže sady Xpert MRSA/SA. Testy Xpert MRSA/SA byly provedeny podle postupu pro test Xpert MRSA/SA SSTI.

Tabulka 11. Souhrn výsledků reprodukovatelnosti

ID vzorku	Pracoviště 1	Pracoviště 2	Pracoviště 3	Celková shoda
Neg. (MSSE)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA - vysoce negativní	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,7 % (58/60)
SA - nízko pozitivní	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
MRSA1 - vysoce negativní	100 % (20/20)	90 % (18/20)	100 % (20/20)	96,6 % (58/60)
MRSA1 - nízko pozitivní	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,6 % (58/60)
MRSA2 - vysoce negativní	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)

ID vzorku	Pracoviště 1	Pracoviště 2	Pracoviště 3	Celková shoda
MRSA2 - nízko pozitivní	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,6 % (58/60)
Celková shoda podle pracoviště v %	100 % (140/140)	97,9 % (137/140)	95,7 % (134/140)	97,9 % (411/420)

Tabulka 12. Shrnutí výsledků hodnot Ct podle úrovně vzorku a sondy

Úroveň	Průměr	Směr. odch.	CV (%)
SPC			
MRSA1 - vysoce negativní	34,52	0,82	2,36
MRSA2 - vysoce negativní	34,46	0,85	2,46
Neg. (MSSE)	34,44	0,90	2,62
SA - vysoce negativní	34,38	0,92	2,66
SpA			
Úroveň	Průměr	Směr. odch.	CV (%)
MRSA1 - nízko pozitivní	32,96	0,8	2,44
MRSA2 - nízko pozitivní	31,05	0,69	2,21
SA - nízko pozitivní	33,91	0,8	2,35
mecA			
Úroveň	Průměr	Směr. odch.	CV (%)
MRSA1 - nízko pozitivní	33,25	0,80	2,40
MRSA2 - nízko pozitivní	31,50	0,68	2,16
SCCmec			
Úroveň	Průměr	Směr. odch.	CV (%)
MRSA1 - nízko pozitivní	34,19	0,90	2,63
MRSA2 - nízko pozitivní	33,13	0,68	2,05

Druhá studie reprodukovatelnosti byla provedena pomocí panelu 4 vzorků (SA: 10X LoD, MRSA1: 10X LoD, MRSA2: 10X LoD a negativní kontroly: *Staphylococcus epidermidis*). Panely byly testovány v duplikátech po 10 různých dnů na každém ze tří pracovišť (4 vzorky x 2x za den x 10 dní x 3 pracoviště). Na každém ze 3 testovacích pracovišť byla použita jedna šarže testu Xpert MRSA/SA SSTI. Testy Xpert MRSA/SA SSTI byly provedeny podle postupu pro test Xpert MRSA/SA SSTI. Správné výsledky byly získány ve 239 ze 240 testů.

Tabulka 13. Souhrn výsledků reprodukovatelnosti

ID vzorku	Pracoviště 1	Pracoviště 2	Pracoviště 3	Celková shoda
Neg. (MSSE)	100 (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA - mírně pozitivní ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
MRSA1 - mírně pozitivní ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)

ID vzorku	Pracoviště 1	Pracoviště 2	Pracoviště 3	Celková shoda
MRSA2 - mírně pozitivní ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
Celková shoda podle pracoviště v %	100 % (80/80)	100 % (80/80)	98,8 % (79/80)	99,6 % (239/240)

^a 10X LoD

Tabulka 14. Shrnutí výsledků hodnot Ct podle úrovně vzorku a sondy

Úroveň	Průměr	Směr. odch.	CV (%)
SPC			
MRSA1 - mírně pozitivní	35,72	1,87	5,24
MRSA2 - mírně pozitivní	36,29	2,66	7,34
SA - mírně pozitivní	34,55	1,19	3,44
NEG	34,45	1,06	3,09
SpA			
Úroveň	Průměr	Směr. odch.	CV (%)
MRSA1 - mírně pozitivní	29,52	1,30	4,40
MRSA2 - mírně pozitivní	28,91	1,03	3,57
SA - mírně pozitivní	30,59	0,91	2,99
mecA			
Úroveň	Průměr	Směr. odch.	CV (%)
MRSA1 - mírně pozitivní	29,78	1,28	4,29
MRSA2 - mírně pozitivní	29,32	1,24	4,22
SCCmec			
Úroveň	Průměr	Směr. odch.	CV (%)
MRSA1 - mírně pozitivní	31,49	1,26	3,99
MRSA2 - mírně pozitivní	31,05	1,12	3,59

26 Literatura

1. Bannerman TL. 2003 Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Pages 384-404.
2. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al. 2006. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in the United States, 2001-2002. An Family Medicine. 4(2):132-137.
3. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470-85.
4. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. JAMA 282(19):1745-51.
5. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Diseases 7(2) 323-6.
6. Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.

7. Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in hospitals. *Antimicrobial. Agents Chemother.* 51: 4342 – 4350.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Dokument M29 (viz poslední vydání).
10. Ewig S, Schlochtermeier M, Göke N, et al. 2002. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions. *Chest.* 121:1486-1492.
11. RG Dotson and SK Pingleton. 1993. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. *Chest.* 103, 541-546.
12. Souweine B, Veber B, Bedos JP, et al. 1998. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. *Crit Care Med.* Feb;26(2):236-244.
13. Kanegaye JT, Solimanzadeh P, Bradley JS, et al. 2001. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. *Pediatrics.* 108(5):1169-1174.
14. Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* Sep;131:785-787.
15. Nadarajah J, et. al., Identification of different clonal complexes and diverse amino acid substitutions in penicillin-binding protein 2 (PBP2) associated with borderline oxacillin resistance in Canadian *Staphylococcus aureus* isolates. *J of Med Micro* (2006), 55: 1675-1683.
16. Ribeiro J, et. al., Misclassification of Susceptible Strains of *Staphylococcus aureus* as Methicillin-Resistant *S. aureus* by a rapid Automated Susceptibility Testing System. (1999), 37: 1619-1620.
17. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1272/2008 ze dne 16. prosince 2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, o změně a zrušení směrnice 67/548/EHS a 1999/45/ES a o změně nařízení (ES) č. 1907/2006.
18. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

27 Hlavní sídla společnosti 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

28 Technická pomoc

Dříve, než kontaktujete technickou podporu společnosti Cepheid, připravte si následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže

- Sériové číslo přístroje
- Chybové zprávy (pokud je to relevantní)
- Verze softwaru a (pokud je to relevantní) číslo servisního štítku počítače

Spojené státy

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

Francie

Telefon: + 33 563 825 319

E-mail: support@cepheideurope.com

Kontaktní informace všech kanceláří technické podpory společnosti Cepheid jsou uvedeny na našem webu:
www.cepheid.com/en/support/contact-us

29 Tabulka značek

Značka	Význam
	Katalogové číslo
	Zdravotnický diagnostický prostředek <i>in vitro</i>
	Nepoužívat opakovaně
	Kód šarže
	Čtěte návod k použití
	Upozornění
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro <i>n</i> testů
	Kontrola
	Datum expirace
	Označení CE – Evropská shoda
	Teplotní limit
	Varování

Značka	Význam
	Biologická rizika



Cepheid AB
 Röntgenvägen 5
 SE-171 54 Solna
 Švédsko



30 Historie revizí

Popis změn: Z 301-0190 Rev. F. na Rev. G.

Účel: Zajištění shody s požadavky nařízení (EU) 2017/746

Revize	Popis změny
V celém dokumentu	Výskyty slova „assay“ (stanovení) použité jako značkový název změněny na „test“.
Část 30	Přidána část Historie revizí.