

cobas[®] **MRSA/SA Test**

per l'utilizzo con il **cobas**[®] **4800 System**

Per uso diagnostico *in vitro*



cobas [®] 4800 System Sample Preparation Kit	240 Tests 960 Tests	P/N 05235782190 P/N 05235804190
cobas [®] 4800 System Lysis Kit 1	240 Tests 960 Tests	P/N 06768253190 P/N 06768270190
cobas [®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N 05235863190 P/N 05235871190
cobas [®] 4800 System Internal Control Kit 1	20 Runs	P/N 06768318190
cobas [®] 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit	80 Tests 240 Tests	P/N 06768113190 P/N 06768172190
cobas [®] 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit	10 Runs	P/N 06768288190

INDICE GENERALE

Uso previsto

Riassunto e spiegazione del test / Principi della procedura

Premessa: screening MRSA/SA	4
Spiegazione del test	5
Principi della procedura	5
Preparazione del campione.....	5
Amplificazione mediante PCR e rilevazione con TaqMan®	5
Amplificazione selettiva	5

Materiali, reagenti e campioni

Materiali e reagenti forniti	6
Conservazione e gestione dei reagenti.....	8
Materiali aggiuntivi necessari	14
Materiali opzionali	14
Strumentazione e software necessari ma non forniti	14

Precauzioni e requisiti per l'uso

Avvertimenti e precauzioni.....	15
Buone pratiche di laboratorio.....	15
Contaminazione	16
Integrità	16
Smaltimento	16
Fuoriuscite e pulizia	16
Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni	17
Prelievo dei campioni	17
Conservazione e stabilità dei campioni durante il trasporto.....	17

Istruzioni per l'uso

Esecuzione del test.....	18
Flusso di lavoro.....	18
Procedura del test.....	18

Risultati

Controllo di qualità e validità dei risultati	23
Controllo positivo	23
Controllo negativo	23
Controllo interno	23
Interpretazione dei risultati	24
Elenco dei flag dei risultati.....	26

Coltura di campioni clinici	26
Limiti della procedura	26
Valutazione delle prestazioni non cliniche	
Sensibilità analitica.....	28
Rilevazione dei genotipi MRSA e SA.....	28
Inclusività geografica	30
Precisione	31
Inibizione competitiva.....	32
Specificità analitica.....	33
Interferenze	36
Prestazioni cliniche con i campioni clinici	37
Risultati della riproducibilità per MRSA	39
Risultati della riproducibilità per SA	41
Prestazioni cliniche	42
Risultati.....	43
Valori attesi	46
Informazioni supplementari	
Caratteristiche specifiche del saggio	48
Simboli	49
Assistenza tecnica	50
Produttore e importatore	50
Marchi e brevetti.....	50
Copyright.....	50
Bibliografia	51
Revisione del documento	52

Uso previsto

Il test **cobas**® MRSA/SA per il **cobas**® 4800 System è un saggio PCR real-time per la determinazione qualitativa rapida *in vitro* del DNA di *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) e di *Staphylococcus aureus* (SA) ottenuto da tamponi nasali, da utilizzare per la prevenzione e il controllo delle infezioni causate da MRSA e SA in ambito sanitario. Il test **cobas**® MRSA/SA non è destinato alla diagnosi delle infezioni da MRSA/SA, né deve essere utilizzato per indirizzare o monitorare il trattamento di queste infezioni o per fornire indicazioni sulla suscettibilità alla meticillina. Un risultato negativo non esclude la colonizzazione nasale da MRSA/SA. L'uso in contemporanea di un'eventuale coltura è previsto unicamente per isolare microorganismi utili per la tipizzazione epidemiologica o per ulteriori test di suscettibilità.

Riassunto e spiegazione del test / Principi della procedura

Premessa: screening MRSA/SA

Lo *Staphylococcus aureus* (SA) è un patogeno opportunisto, presente come organismo commensale sulla cute e nelle narici del 30% circa della popolazione normale. Potenzialmente può causare un'ampia gamma di patologie.¹ Lo *Staphylococcus aureus* sa adattarsi rapidamente alla pressione selettiva degli antibiotici e questa sua capacità ha causato un'emergenza sanitaria con la diffusione di ceppi resistenti alla meticillina (MRSA). La resistenza alla meticillina, che va a sommarsi alla resistenza ad altri antibiotici β -lattamici, è mediata dal prodotto del gene *mecA* la cui posizione è su un elemento genetico mobile: la cassetta genica SCC (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*, SCCmec). Il gene *mecA* codifica per la proteina legante la penicillina (penicillin-binding protein, PBP) nella sua forma alterata: PBP 2a. Impedisce quindi agli antibiotici β -lattamici di formare i normali legami con la proteina PBP nella parete cellulare e di svolgere un'azione di disturbo della sintesi dello strato peptidoglicano, che provoca la morte della cellula batterica. Sono stati classificati svariati tipi di SCCmec.² Sono stati identificati numerosi ceppi di MRSA diffusi nel mondo, mentre vari stipiti di *Staphylococcus aureus* hanno acquisito la cassetta genica SCCmec.²

I ceppi di MRSA e SA sono un'importante causa di infezioni contratte in ambito sanitario e da molti anni provocano epidemie batteriche nelle strutture ospedaliere di tutto il mondo.^{3,4} Le infezioni da MRSA/SA rappresentano un enorme peso sia per i sistemi sanitari nazionali che per le singole strutture ospedaliere e, ovviamente, comportano costi elevati.⁵ In questo senso esistono raccomandazioni e linee guida,⁶ oltre a procedure ospedaliere standard, che prevedono lo screening e l'isolamento e/o la decolonizzazione dei pazienti portatori di MRSA e SA come misure di controllo della diffusione delle infezioni.⁷

In caso di epidemia sono previste misure precauzionali aggiuntive, come lo screening di tutti i pazienti ricoverati e di tutto il personale ospedaliero o la chiusura dei reparti. Nonostante esistano linee guida pubbliche, le procedure operative standard per il controllo delle infezioni possono comunque variare da Paese a Paese e da ospedale a ospedale.

La differenza tra il successo o l'insuccesso di una strategia di screening e di cura è determinata da due fattori chiave: la sensibilità del metodo e la tempestività dei risultati.⁸ I metodi tradizionali, basati sulle colture, producono risultati solo dopo diversi giorni e non consentono di adottare immediatamente misure mirate per il controllo dell'infezione, ma richiedono invece che le procedure generiche per il controllo delle infezioni siano estese a tutti i pazienti. Solo tecniche rapide, come i test molecolari, consentono di rilevare tempestivamente la presenza di MRSA e SA nei pazienti colonizzati e di adottare immediatamente tutte le

contromisure opportune.⁹ Numerose pubblicazioni dimostrano la validità e l'importanza dei test molecolari per la determinazione rapida delle colonizzazioni da MRSA e SA.¹⁰⁻¹³

Il test **cobas**® MRSA/SA consente di analizzare i campioni di tamponi nasali prelevati con il kit di raccolta, trasporto e conservazione COPAN MSwab. Le provette contenenti i campioni primari devono essere caricate sul **cobas**® 4800 System, dove vengono avviate automaticamente le procedure di estrazione dell'acido nucleico e di allestimento della reazione PCR. Successivamente la PCR Real-time rileva l'eventuale presenza del DNA target specifico di MRSA o SA nel campione. Il test può essere eseguito contemporaneamente ai test **cobas**® Cdiff e **cobas**® HSV 1 e 2 predisponendo un batch misto per la stessa seduta. Tutti e tre questi test utilizzano la stessa procedura automatica di estrazione del campione e lo stesso profilo PCR di amplificazione e rilevazione.

Spiegazione del test

Il test **cobas**® MRSA/SA si basa su due procedure principali: (1) preparazione automatica dei campioni per estrarre gli acidi nucleici dai campioni nasali; (2) amplificazione mediante PCR delle sequenze di DNA target utilizzando primer specifici per MRSA e SA e rilevazione real-time delle sonde di rilevazione oligonucleotidiche fluorescenti scisse, specifiche per MRSA e SA. Durante la procedura di preparazione automatica, a tutti i campioni viene aggiunto un controllo interno contenente una sequenza di DNA randomizzata non correlata. Il controllo interno viene sottoposto ad amplificazione e rilevazione insieme ad ogni campione a scopo di verifica della regolarità della procedura.

Principi della procedura

Preparazione del campione

La preparazione dei campioni per il test **cobas**® MRSA/SA avviene in modo automatico sullo strumento **cobas**® x 480. Gli organismi vengono lisati con agente caotropico, proteinasi K e reagenti SDS. Gli acidi nucleici liberati, insieme al DNA del controllo interno aggiunto, formano legami con le biglie magnetiche. Vengono sottoposti a lavaggio ed eluizione in un piccolo volume di tampone. Lo strumento preleva un'aliquota del materiale eluito e prepara la reazione PCR con un reagente Master Mix attivato.

Amplificazione mediante PCR e rilevazione con TaqMan®

Le fasi del ciclo PCR e la rilevazione del segnale target si svolgono sull'analizzatore **cobas**® z 480. Il reagente Master Mix contiene coppie di primer e sonde per tre target: la regione di giunzione all'estremità destra della cassetta SCCmec specifica per MRSA; un target genomico per tutti gli stafilococchi aurei (inclusi MRSA); il controllo interno (Internal Control, IC). Se sono presenti sequenze dell'acido nucleico target, l'amplificazione con i primer corrispondenti viene avviata da una DNA polimerasi termostabile e vengono generati i prodotti della PCR (amplicon). Questi prodotti vengono riconosciuti da sonde TaqMan specifiche, che contengono un colorante fluorescente e un quencher. In condizioni normali il quencher sopprime la fluorescenza del colorante. Tuttavia se è presente il prodotto della PCR, la sonda ibridizza con il prodotto e viene scissa dall'attività di esonucleasi 5' > 3' della polimerasi. Questa reazione determina l'emissione di fluorescenza dal colorante. Il segnale viene registrato in tempo reale durante ogni ciclo di PCR dall'analizzatore **cobas**® z 480. Il segnale viene interpretato dal software del **cobas**® 4800 System e refertato come risultato finale.

Amplificazione selettiva

Per ottenere l'amplificazione selettiva dell'acido nucleico target dal campione, il test **cobas**® MRSA/SA si avvale dell'azione dell'enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) e del trifosfato di deossiridina (dUTP). L'enzima AmpErase riconosce e catalizza la reazione di distruzione dei filamenti di DNA contenenti deossiridina¹¹ ma non del DNA contenente deossitimidina. La deossiridina non è presente nel DNA

naturale, ma è sempre presente nell'amplicone perché il trifosfato di deossiuridina è uno dei dNTP utilizzati nel reagente Master Mix e, di conseguenza, soltanto l'amplicone contiene deossiuridina. La deossiuridina rende l'amplicone contaminante suscettibile alla distruzione da parte dell'enzima AmpErase prima dell'amplificazione del DNA target. L'enzima AmpErase contenuto nel reagente Master Mix catalizza la scissione del DNA contenente deossiuridina in corrispondenza dei residui di deossiuridina, aprendo la catena di deossiribosio nella posizione C1. Quando viene riscaldata nella prima fase del ciclo termico (pH alcalino del reagente Master Mix), la catena del DNA amplicone si spezza in corrispondenza della posizione della deossiuridina, rendendo il DNA non amplificabile. L'AmpErase è inattivo a temperature superiori a 55°C (cioè durante tutte le fasi del ciclo termico) e di conseguenza non distrugge l'amplicone target. È dimostrato che il test **cobas®** MRSA/SA rende inattive almeno 10³ copie dell'amplicone MRSA/SA contenente deossiuridina ad ogni ciclo di PCR.

Materiali, reagenti e campioni

Materiali e reagenti forniti

Kit/Cassette	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per test	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit di preparazione dei campioni per il cobas® 4800 System) 240 test (P/N: 05235782190)	MGP (Biglie magnetiche per il cobas® 4800 System) Biglie magnetiche 93% Alcol isopropilico**	10 × 4,5 ml	 <p>PERICOLO H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili. H319: Provoca grave irritazione oculare. H336: Può provocare sonnolenza o vertigini. P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare. P233: Tenere il recipiente ben chiuso. P261: Evitare di respirare la nebbia o i vapori. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/proteggere il viso/ proteggere l'udito. P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle. P370 + P378: In caso di incendio: utilizzare sabbia asciutta, polvere chimica secca o schiuma resistente all'alcol per estinguere. 67-63-0 Propan-2-olo</p>
	EB (Tampone di eluizione per il cobas® 4800 System) Tampone Tris 0,09% Sodio azide	10 × 18 ml	N/D

Kit/Cassette	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per test	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit di preparazione dei campioni per il cobas® 4800 System) 960 test (P/N: 05235804190)	MGP (Biglie magnetiche per il cobas® 4800 System) Biglie magnetiche 93% Alcol isopropilico**	10 × 13,5 ml	 <p>PERICOLO H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili. H319: Provoca grave irritazione oculare. H336: Può provocare sonnolenza o vertigini. P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare. P233: Tenere il recipiente ben chiuso. P261: Evitare di respirare la nebbia o i vapori. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/proteggere il viso/ proteggere l'udito. P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle. P370 + P378: In caso di incendio: utilizzare sabbia asciutta, polvere chimica secca o schiuma resistente all'alcol per estinguere. 67-63-0 Propan-2-olo</p>
	EB (Tampone di eluizione per il cobas® 4800 System) Tampone Tris 0,09% Sodio azide	10 × 18 ml	N/D

Kit/Cassette	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per test	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 test (P/N: 06768253190)	LYS-1 (Tampone di lisi 1 per il cobas® 4800 System) Citrato di sodio 5% polidocanolo** 42,6% guanidina tiocianato** Ditiotreitolo**	10 × 10 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H302: Nocivo per ingestione.</p> <p>H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.</p> <p>H411: Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.</p> <p>EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici.</p> <p>EUH071: Corrosivo per le vie respiratorie.</p> <p>P273: Non disperdere nell'ambiente.</p> <p>P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito.</p> <p>P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle.</p> <p>P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.</p> <p>P391: Raccogliere il materiale fuoriuscito.</p> <p>593-84-0 Tiocianato di guanidinio 9002-92-0 Polidocanolo 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo</p>

Kit/Cassette	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per test	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 test (P/N: 06768253190)	PK (Proteinasi K per il cobas® 4800 System) Tampone Tris EDTA Cloruro di calcio Acetato di calcio < 2,0% proteinasi K* Glicerina	10 × 0,9 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.</p> <p>H334: Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.</p> <p>P261: Evitare di respirare la nebbia o i vapori.</p> <p>P280: Indossare guanti protettivi.</p> <p>P284: Indossare un apparecchio di protezione respiratoria.</p> <p>P304 + P340: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.</p> <p>P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.</p> <p>P342 + P311: In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico.</p> <p>39450-01-6 Proteinasi, <i>Tritirachium album</i> serina</p>
	SDS (Reagente SDS per il cobas® 4800 System) Tampone Tris Dodecil solfato di sodio 0,09% sodio azide	10 × 3 ml	N/A

Kit/Cassette	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per test	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 test (P/N: 06768270190)	LYS-1 (Tampone di lisi 1 per il cobas® 4800 System) Citrato di sodio 5% polidocanolo** 42,6% guanidina tiocianato** Ditiotreitolo**	10 × 36 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H302: Nocivo per ingestione.</p> <p>H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.</p> <p>H411: Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.</p> <p>EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici.</p> <p>EUH071: Corrosivo per le vie respiratorie.</p> <p>P273: Non disperdere nell'ambiente.</p> <p>P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito.</p> <p>P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle.</p> <p>P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.</p> <p>P391: Raccogliere il materiale fuoriuscito.</p> <p>593-84-0 Tiocianato di guanidinio 9002-92-0 Polidocanolo 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo</p>

Kit/Cassette	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per test	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 test (P/N: 06768270190)	PK (Proteinasi K per il cobas® 4800 System) Tampone Tris EDTA Cloruro di calcio Acetato di calcio < 2,0% proteinasi K** Glicerina	20 × 1,2 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.</p> <p>H334: Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.</p> <p>P261: Evitare di respirare la nebbia o i vapori.</p> <p>P280: Indossare guanti protettivi.</p> <p>P284: Indossare un apparecchio di protezione respiratoria.</p> <p>P304 + P340: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.</p> <p>P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.</p> <p>P342 + P311: In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico.</p> <p>39450-01-6 Proteinasi, <i>Tritirachium album</i> serina</p>
	SDS (Reagente SDS per il cobas® 4800 System) Tampone Tris Dodecil solfato di sodio 0,09% sodio azide	10 × 9 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 test (P/N: 05235863190)	WB (Tampone di lavaggio per cobas® 4800 System) Citrato di sodio diidrato 0,05% N-Metilisotiazolone-HCl	10 × 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 test (P/N: 05235871190)	WB (Tampone di lavaggio per cobas® 4800 System) Citrato di sodio diidrato 0,05% N-Metilisotiazolone-HCl	10 × 200 ml	N/A
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 sedute (P/N: 06768318190)	IC-1 (cobas® 4800 IC-1) Tampone Tris EDTA < 0,01% Poly rA RNA (sintetico) 0,05% sodio azide < 0,01% DNA del controllo interno sintetico, non infettivo, incapsulato in proteina di rivestimento batteriofago Lambda	20 × 0,5 ml	N/A

Kit/Cassette	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per test	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit 80 test (P/N: 06768113190)	MRSA/SA MMX (cobas® MRSA/SA Master Mix) Tampone tricina EDTA Acetato di potassio Idrossido di potassio Tween 20 Glicerolo 0,09% sodio azide < 0,19% dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% primer upstream e downstream MRSA, SA e IC < 0,01% sonde fluorescenti per MRSA, SA e sonde fluorescenti per IC < 0,01% aptamero oligonucleotidico < 0,01% DNA polimerasi Z05 (batterica) < 0,02% enzima AmpErase (uracil-N- glicosilasi) (batterico)	10 × 0,3 ml	N/A
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit 240 test (P/N: 06768172190)	MRSA/SA MMX (cobas® MRSA/SA Master Mix) Tampone tricina EDTA Acetato di potassio Idrossido di potassio Tween 20 Glicerolo 0,09% sodio azide < 0,19% dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% primer upstream e downstream MRSA, SA e IC < 0,01% sonde fluorescenti per MRSA, SA e sonde fluorescenti per IC < 0,01% aptamero oligonucleotidico < 0,01% DNA polimerasi Z05 (batterica) < 0,02% enzima AmpErase (uracil-N- glicosilasi) (batterico)	10 × 0,7 ml	N/A

Kit/Cassette	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per test	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit 10 sedute (P/N: 06768288190)	MRSA/SA (+) C (Controllo Positivo cobas® MRSA/SA) Tampone Tris EDTA < 0,01% Poly rA RNA (sintetico) 0,05% sodio azide < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (batterico) con sequenza di MRSA < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (batterico) con sequenza di SA	10 × 0,5 ml	N/A
	(-) C (Controllo Negativo per il cobas® 4800 System) Tampone Tris EDTA < 0,01% Poly rA RNA (sintetico) 0,05% sodio azide	10 × 0,5 ml	N/A
	Cofactor-1 (Cofattore 1 cobas® 4800) Acetato di manganese Acetato di magnesio 0,09% sodio azide	10 × 1,7 ml	N/A

* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

** Sostanza pericolosa.

Conservazione e gestione dei reagenti

Reagente	Temperatura di conservazione	Tempo di conservazione
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit di preparazione dei campioni per il cobas® 4800 System)	2-8°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Kit di lisi 1 per il cobas® 4800 System)	2-8°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Kit di controllo interno 1 per il cobas® 4800 System)	2-8°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit (Kit di rilevazione/amplificazione cobas® 4800 MRSA/SA)	2-8°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata
cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit (Kit di controllo e cofattore cobas® 4800 MRSA/SA)	2-8°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit del tampone di lavaggio per il cobas® 4800 System)	15-25°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata

Non congelare i reagenti.

La data di scadenza del reagente è basata sul tempo coordinato universale (UTC). L'ora locale della scadenza del reagente può discostarsi di ±12 ore, a seconda del fuso orario locale in relazione all'UTC.

Materiali aggiuntivi necessari

Materiali	P/N
Puntali CORE da 1000 µl, rack da 96	04639642001
Vaschetta per reagenti da 50 ml	05232732001
Vaschetta per reagenti da 200 ml	05232759001
Piastra di estrazione (a pozzetti profondi) per il cobas ® 4800 System	05232716001
Piastra per PCR (a micropozzetti) da 0,3 ml e pellicola adesiva per il cobas ® 4800 System	05232724001
Applicatore per pellicola adesiva	04900383001
Rack da 32 posizioni	04639529001
Sacchetto per rifiuti solidi	05530873001 (piccolo) o 04691989001 (grande)
Manica di smaltimento in plastica Hamilton STAR	Roche 04639669001
Sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab	07007248190 o COPAN P/N 404C.R o 404C
Guanti monouso, senza talco	È ammesso l'uso di guanti senza talco monouso di qualsiasi marca.
Miscelatore vortex (monoprovetta)	È ammesso l'uso di un miscelatore vortex di qualsiasi marca.

Per maggiori informazioni sui prodotti venduti separatamente, rivolgersi al rappresentante Roche locale.

Materiali opzionali

Materiali	P/N
Copertura o coperchio per piastre a pozzetti profondi	Roche 04789288001 o Hamilton 6474-01
Tappi, colore bianco (per ritappare i campioni primari dopo la seduta)	07033893001 o COPAN 2U008N100.R o 2U008N100

Per maggiori informazioni sui materiali opzionali, rivolgersi al rappresentante Roche locale.

Strumentazione e software necessari ma non forniti

Strumentazione e software necessari, non forniti
cobas ® 4800 System Strumento cobas ® x 480 Analizzatore cobas ® z 480 Unità di controllo
Software cobas ® MRSA/SA AP versione 1.0.0 o successiva per il cobas ® 4800 System
Software di applicazione (Core) versione 2.2.0 o successiva per il cobas ® 4800 System

Per maggiori informazioni sui prodotti venduti separatamente, rivolgersi al rappresentante Roche locale.

Precauzioni e requisiti per l'uso

Avvertimenti e precauzioni

Com'è auspicabile per qualsiasi procedura di analisi, per lo svolgimento di questo test è necessario attenersi alla buona pratica di laboratorio. Data l'elevata sensibilità analitica di questo test, prestare attenzione affinché i reagenti, i campioni e le miscele di amplificazione siano esenti da contaminazioni.

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Evitare la contaminazione dei reagenti e dei campioni con batteri e DNA. Lo *Staphylococcus aureus* è presente nel 30% circa della popolazione, nelle narici e sulla pelle. Prestare particolare attenzione durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti per evitare la potenziale contaminazione con *Staphylococcus aureus* da parte dell'operatore.
- Le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili su richiesta presso la sede Roche locale.
- Il reagente LYS-1 contiene guanidina tiocianato. Impedire il contatto diretto tra la guanidina tiocianato e l'ipoclorito di sodio (candeggina) o altri reagenti fortemente reattivi, ad esempio acidi o basici. Queste miscele possono rilasciare un gas nocivo.
- Il reagente MGP contiene isopropanolo ed è facilmente infiammabile. Tenere al riparo da fiamme libere e da ambienti dove si possono verificare scintille.
- I reagenti EB, MRSA/SA MMX, SDS, Cofactor-1, (-)C, MRSA/SA (+)C e IC-1 contengono sodio azide.
- Per ulteriori avvertimenti, precauzioni e procedure volte a ridurre il rischio di contaminazione per il **cobas**® x 480 instrument o il **cobas**® z 480 analyzer, consultare l'Assistenza Utente del **cobas**® 4800 System. In caso di sospetta contaminazione, eseguire la pulizia e la manutenzione settimanale seguendo le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas**® 4800 System.
- In caso di incidenti gravi che dovessero verificarsi durante l'uso di questo test, inviare una segnalazione all'autorità competente locale e al produttore.

Nota: per istruzioni specifiche, vedere la sezione “Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni”.

Buone pratiche di laboratorio

- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro del laboratorio.
- Dopo avere manipolato i campioni e i reagenti del kit, lavarsi accuratamente le mani.
- Durante la manipolazione dei reagenti, indossare camici da laboratorio, guanti monouso e una protezione adeguata per gli occhi. Evitare il contatto di questi materiali con la pelle, gli occhi o le membrane mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua. Intervenire tempestivamente per prevenire possibili ustioni. In caso di fuoriuscita del reagente, diluire il liquido con acqua prima di asciugare.
- Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro del laboratorio con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio al 0,5% e acqua deionizzata o distillata (candeggina per uso domestico diluita 1:10). Successivamente pulire la superficie con etanolo al 70%.

Contaminazione

- Per evitare contaminazioni è necessario indossare i guanti e sostituirli prima di utilizzare il campione o il reagente **cobas**® MRSA/SA successivo. Evitare di contaminare i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei controlli. Indossare guanti, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit.
- Evitare la contaminazione dei reagenti con batteri e ribonucleasi.
- Potrebbero essere generati risultati falsi positivi senza un'adeguata prevenzione del carryover durante la manipolazione dei campioni.
- I campioni devono essere manipolati come se fossero infettivi, adottando le procedure di sicurezza del laboratorio delineate in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁴ e nel documento CLSI M29-A4.¹⁵

Integrità

- Non utilizzare i kit dopo le date di scadenza.
- Non combinare i reagenti.
- Non utilizzare i materiali di consumo dopo la data di scadenza.
- Non utilizzare reagenti o contenitori visibilmente danneggiati o con segni di perdita.
- Tutti i materiali di consumo sono monouso. Non riutilizzare.
- La manutenzione di tutte le apparecchiature deve essere conforme alle istruzioni fornite dal produttore.

Smaltimento

- I reagenti **cobas**® 4800 e i reagenti specifici del test **cobas**® MRSA/SA contengono sodio azide (vedere "**Avvertimenti e precauzioni**"). La sodio azide può reagire con le tubature di piombo e rame formando azidi metallici altamente esplosivi. Quando le soluzioni contenenti sodio azide vengono smaltite nei lavelli del laboratorio, è necessario sciacquare gli scarichi con abbondante acqua fredda per impedire l'accumulo di azidi.
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto nel rispetto delle leggi vigenti.

Nota: per lo smaltimento dei rifiuti liquidi, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Fuoriuscite e pulizia

- Il reagente LYS-1 contiene guanidina tiocianato. In caso di fuoriuscita di liquido contenente guanidina tiocianato, pulire con acqua e un detergente da laboratorio idoneo. Se il liquido fuoriuscito contiene agenti potenzialmente infettivi, pulire la superficie interessata PRIMA con acqua e un detergente da laboratorio e poi con ipoclorito di sodio allo 0,5%.
- Se fuoriesce un liquido sul **cobas**® 4800 instrument, pulire attenendosi alle istruzioni contenute nell'Assistenza Utente - **cobas**® 4800 System.
- Per pulire il **cobas**® x 480 instrument o il **cobas**® z 480 analyzer, non utilizzare la soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina). Pulire il **cobas**® x 480 instrument o il **cobas**® z 480 analyzer attenendosi alle procedure descritte nell'Assistenza Utente del **cobas**® 4800 System.

Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni

Nota: manipolare tutti i campioni come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.

Prelievo dei campioni

I campioni prelevati con tampone nasale utilizzando il sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab sono approvati per l'uso con il test **cobas**® MRSA/SA. Raccogliere i campioni seguendo la procedura dettagliata descritta nella sezione “Procedura di raccolta dei campioni”, rispettando le procedure operative standard adottate dalla propria organizzazione.

Conservazione e stabilità dei campioni durante il trasporto

I campioni dei tamponi nasali prelevati con il sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab sono stabili per il trasporto e la conservazione a 2-30°C per 4 giorni, o a 2-8°C per 9 giorni, o congelati a -20°C per 30 giorni prima dello svolgimento del test sul **cobas**® 4800 System (la stabilità è stata dimostrata analizzando i campioni conservati ininterrottamente a $15 \pm 1^\circ\text{C}$ e a $31 \pm 1^\circ\text{C}$ per 4 giorni, quindi a 2-8°C per 5 giorni e infine a $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ per 30 giorni).

Il trasporto dei campioni MRSA/SA deve avvenire nel rispetto di tutti i regolamenti locali, regionali e nazionali per il trasporto di agenti eziologici.

Istruzioni per l'uso

Esecuzione del test

Flusso di lavoro

Figura 1. Flusso di lavoro cobas® MRSA/SA

1	Avviare il sistema.
2	Eeguire la manutenzione dello strumento.
3	Prendere i campioni e i reagenti dal luogo in cui sono conservati.
4	Avviare la seduta: <ul style="list-style-type: none"> • Caricare i rack con i campioni.
5	Con sistema LIS: confermare il work order Senza sistema LIS: creare il work order
6	Caricare il materiale di consumo (piastra di estrazione, piastra per PCR, rack per puntali) e reagenti
7	Avviare la seduta per la preparazione dei campioni
8	Scaricare e coprire la piastra per PCR
9	Rimuovere i campioni, i reagenti usati e la piastra di estrazione.
10	Caricare la piastra per PCR sull'analizzatore
11	Rivedere i risultati
12	Con sistema LIS: inviare i risultati al sistema LIS
13	Scaricare tutto il materiale dall'analizzatore

Procedura del test

Procedura di raccolta dei campioni

1. Utilizzare il tampone floccato fornito nel kit di raccolta MSwab. Il tampone può essere utilizzato a secco o inumidito prima con due gocce di soluzione fisiologica sterile.
2. Inserire delicatamente il tampone nella narice del paziente (la punta deve penetrare per 2,5 cm nella cavità nasale).
3. Ruotare 3 volte il tampone sulla mucosa interna della narice.
4. Ripetere i passaggi 2 e 3 nell'altra narice utilizzando lo stesso tampone.
5. Riporre il tampone nella provetta di trasporto. Fare leva sul bordo della provetta per spezzare l'asticella del tampone nel punto contrassegnato.
6. Chiudere il tappo verificando che l'estremità superiore dell'asticella del tampone sia in posizione centrale.
7. Etichettare il campione e trasportarlo al laboratorio di analisi seguendo le procedure operative standard della propria organizzazione (consultare la sezione "**Conservazione e stabilità dei campioni durante il trasporto**"). Per le note sui campioni, consultare la sezione "**Flusso di lavoro**".

Tutti i reagenti, ad eccezione di MRSA/SA MMX e Cofactor-1, devono raggiungere la temperatura ambiente prima di essere caricati sullo strumento **cobas®** x 480. I reagenti MRSA/SA MMX e Cofactor-1 possono essere prelevati direttamente dal luogo in cui sono conservati a 2-8°C, in quanto potranno raggiungere la temperatura ambiente sullo strumento **cobas®** x 480 prima del loro utilizzo nella seduta.

Nota: per istruzioni operative dettagliate, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Dimensioni della seduta

Il **cobas®** 4800 System è progettato per supportare sedute di batch misti con i test **cobas®** MRSA/SA, **cobas®** Cdiff e **cobas®** HSV 1 e 2. Il kit generico **cobas®** 4800 System Sample Preparation Kit, il kit generico **cobas®** 4800 System Lysis Kit 1 e il kit generico **cobas®** 4800 System Wash Buffer Kit sono disponibili in due formati, ognuno sufficiente per 10 sedute da 24 o 96 campioni al massimo, compresi i controlli e i campioni di analisi per tutti i test da eseguire. Il kit di rilevazione/amplificazione **cobas®** 4800 MRSA/SA è disponibile in due formati, ognuno sufficiente per analizzare 80 o 240 campioni al massimo, compresi i controlli MRSA/SA e i campioni di analisi. È possibile utilizzare più flaconi di reagente Master Mix **cobas®** 4800 MRSA/SA in una seduta, purché siano dello stesso formato. Il kit generico di controllo interno 1 per il **cobas®** 4800 System e i kit di controllo e co-fattore **cobas®** 4800 MRSA/SA sono disponibili in un unico formato, sufficiente rispettivamente per 20 e 10 sedute e compatibile con tutte le configurazioni delle sedute. Ogni seduta con campioni MRSA/SA deve includere anche un controllo positivo **cobas®** 4800 MRSA/SA e un controllo negativo **cobas®** 4800 (vedere la sezione “**Controllo di qualità**”). Una seduta analitica singola può includere al massimo 94 campioni e due controlli.

Nota: sebbene non sia un uso ottimale dei reagenti, è possibile utilizzare un reagente generico da 96 test per una seduta con 1-22 campioni. Non è tuttavia possibile mescolare formati diversi del kit WB (tampone di lavaggio per il cobas® 4800 System), del kit di preparazione dei campioni per il cobas® 4800 System e del kit di lisi 1 per il cobas® 4800 System. Ad esempio, se all'inizio della seduta viene letto il codice a barre di un flacone di reagente WB da 96 test, anche gli altri due kit dovranno essere nei formati da 96 test.

Nota: sebbene non sia un uso ottimale dei reagenti, è possibile utilizzare un reagente cobas® 4800 MRSA/SA MMX da 24 test per una seduta composta da 1-6 campioni MRSA/SA. Per informazioni su come cambiare il formato del kit, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Flusso di lavoro

Il test **cobas®** MRSA/SA viene eseguito con il flusso di lavoro completo configurato nel software **cobas®** 4800. Dopo la preparazione dei campioni sul **cobas®** x 480 instrument, è prevista la fase di amplificazione/rilevazione sul **cobas®** z 480 analyzer. La seduta può essere limitata ai soli campioni MRSA/SA o includere batch misti con i test **cobas®** Cdiff e/o **cobas®** HSV 1 e 2. Per maggiori dettagli, consultare l'Assistenza Utente del **cobas®** 4800 System.

Campioni

Nota: il test cobas® MRSA/SA è approvato per l'uso con il sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab. Non utilizzare altri dispositivi di raccolta o terreni di trasporto dei tamponi.

Nota: se il campione di tampone nasale è stato prelevato correttamente, la provetta deve contenere un solo tampone FLOQSwab con l'asticella trattenuta dal tappo. Se i campioni consegnati in laboratorio non contengono nessun tampone o ne contengono più d'uno, non analizzarli poiché evidentemente non sono stati raccolti secondo le istruzioni corrette.

Nota: non analizzare i campioni di tamponi nasali in cui sono presenti tracce di sangue o il cui colore è marrone scuro.

Nota: i campioni devono trovarsi all'interno delle provette di raccolta per campioni primari (provette primarie) e devono avere un codice a barre valido per poter essere analizzati sullo strumento cobas® x 480. Fare riferimento all'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per conoscere le corrette procedure per i codici a barre e consultare un elenco dei codici a barre supportati dal cobas® 4800 System.

Nota: per prevenire la contaminazione crociata, si consiglia di trattare le provette primarie sul cobas® 4800 System prima di sottoporre i campioni ad altri trattamenti o test.

Nota: per prevenire la contaminazione crociata dei campioni già trattati, utilizzare tappi di un colore diverso (bianco, vedere "Materiali opzionali") per tappare nuovamente le provette primarie MSwab dopo il trattamento dei campioni.

Nota: il volume dei campioni di tamponi nasali in terreno di trasporto MSwab è sufficiente per eseguire due volte il test con il cobas® 4800 System e anche per un'eventuale coltura (vedere "Coltura di campioni clinici"), sempre che non si verifichino perdite del campione prima del test. Per istruzioni sull'inoculazione della coltura, consultare il foglio illustrativo del sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab. La provetta primaria MSwab deve contenere un volume minimo di campione pari a 700 µl, in caso contrario non è possibile eseguire una seduta cobas® MRSA/SA.

Esecuzione del test cobas® MRSA/SA

Nota: è possibile eseguire sedute in batch miste con i test cobas® MRSA/SA e cobas® Cdiff e/o cobas® HSV 1 e 2. Per maggiori informazioni, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

1. Eseguire l'avvio del sistema e le procedure di manutenzione seguendo le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.
2. Raccogliere tutti i reagenti e il materiale di consumo necessario. Tutti i reagenti, ad eccezione di cobas® MRSA/SA MMX e Cofactor-1, devono avere raggiunto la temperatura ambiente all'avvio della seduta.

Nota: tutti i reagenti e tutte le vaschette per reagenti sono monouso e sono provvisti di codice a barre. Il software cobas® 4800 tiene traccia dell'uso dei reagenti e delle vaschette e rifiuta i reagenti e le vaschette già utilizzati.

3. Ispezionare visivamente i campioni di tamponi nasali raccolti in terreno di trasporto MSwab, verificando che siano conformi alla descrizione fornita nella sezione "**Campioni**". Assicurarsi che tutti i tappi siano chiusi. Agitare in vortex il campione per almeno 10 secondi. Stappare la provetta (l'estremità superiore del tampone deve essere trattenuta dal tappo) e ruotare rapidamente il tampone sulla parete interna della provetta di modo che il liquido in eccesso sgoccioli via. Gettare via il tappo con il tampone un attimo prima di caricare il campione sul cobas® 4800 System. Assicurarsi che il tampone sia venuto via insieme al tappo. Se il tampone viene lasciato all'interno della provetta, ostacolerà lo svolgimento del test cobas® MRSA/SA.

4. Avviare una nuova seduta e definire il work order. È possibile creare il work order in tre modi:
- Utilizzando il Sample Editor prima di caricare il rack per campioni sullo strumento **cobas®** x 480 (pulsante “Editor” sulla destra del menu principale). È possibile salvare, modificare e ricaricare i work order secondo necessità.
 - Utilizzando la procedura guidata per creare una nuova seduta e caricare i campioni sullo strumento **cobas®** x 480 seguendo le istruzioni visualizzate. Il codice a barre dei campioni viene letto automaticamente. Devono invece essere specificati i risultati richiesti per ogni campione.
 - Utilizzando il sistema LIS della propria organizzazione.

Per maggiori dettagli, consultare l'Assistenza Utente del **cobas®** 4800 System. Quando si selezionano i risultati richiesti, è possibile scegliere solo l'opzione “MRSA”, le due opzioni “MRSA” e “SA” o solo l'opzione “SA”, a seconda dei test che si desidera eseguire. Ad esempio, selezionando solo l'opzione “SA” non si otterranno i risultati per MRSA.

5. Caricare i campioni e definire/selezionare il work order oppure utilizzare il sistema LIS. L'opzione “Unload sample carriers after transferring to deep well plate” è selezionata per impostazione predefinita. Questa opzione consente all'operatore di scaricare i rack con i campioni rimanenti subito dopo avere trasferito le aliquote necessarie sullo strumento **cobas®** x 480. I contenitori dei campioni devono essere chiusi con un nuovo tappo (vedere “**Materiali opzionali**”) in caso di conservazione.
6. Seguire la procedura guidata per caricare il materiale di consumo. Non aggiungere o rimuovere singoli puntali da un rack parzialmente utilizzato, poiché il software tiene il conto dei puntali rimanenti. Se i puntali disponibili non sono sufficienti per la seduta, viene generato un allarme.
7. Caricare i reagenti per la preparazione dei campioni nelle apposite vaschette provviste di codice a barre. Le vaschette per reagenti sono disponibili in due formati: 200 ml e 50 ml. Seguire la procedura guidata per selezionare la vaschetta per reagenti del formato desiderato. Il codice a barre delle vaschette per reagenti deve essere rivolto verso il lato destro del rack. Caricare i reagenti necessari per la preparazione dei campioni seguendo il metodo “scan-scan-pour-place”:
- “Scan”: scansionare il codice a barre dei flaconi dei reagenti.
 - “Scan”: scansionare il codice a barre delle vaschette per reagenti.
 - “Pour”: versare il reagente nella vaschetta.
 - Collocare la vaschetta piena di reagente nella posizione prevista sul rack per reagenti

Nota: il cronometro interno del cobas® 4800 System registra il tempo di permanenza dei reagenti sullo strumento. Dopo la scansione del tampone di lavaggio (WB), è necessario completare il caricamento e fare clic sul pulsante “Start” entro 1 ora. Nella scheda “Workplace” compare un cronometro del tempo residuo. Il sistema non permetterà alla seduta di iniziare se il tempo è scaduto.

Nota: per garantire un trasferimento accurato delle biglie magnetiche (magnetic glass particles, MGP), agitare con vigore il flacone MGP immediatamente prima di versarlo nella vaschetta per reagenti.

8. Caricare i reagenti di amplificazione/rilevazione (MRSA/SA MMX e Cofactor-1), la proteinasi K (PK) e i controlli [MRSA/SA (+) C, IC e (-) C] direttamente sui rack per reagenti. Per prevenire il rischio di contaminazione, è necessario cambiare i guanti dopo avere manipolato i controlli positivi.

Nota: la procedura guidata calcola il numero e il formato ottimale dei reagenti cobas® MRSA/SA MMX da utilizzare. Il risultato di questo calcolo viene riportato nella colonna “Kit size” della schermata di caricamento dei reagenti MMX e Co-factor. Per utilizzare un diverso formato del reagente cobas® MRSA/SA MMX, fare clic sul pulsante “Change kit size”.

9. Avviare la preparazione dei campioni facendo clic su “Start run”.

10. Se la seduta di preparazione dei campioni termina correttamente, vengono visualizzati i pulsanti “Sample Preparation results” e “Unload”. Se lo si desidera, è possibile selezionare il pulsante “Sample Preparation results” per rivedere i risultati e quindi selezionare “Unload” per scaricare il rack per piastre. In alternativa è possibile selezionare “Unload” per scaricare il rack per piastre senza rivedere i risultati. Consultare l'Assistenza Utente del **cobas®** 4800 System.
11. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas®** 4800 System per sigillare la piastra per PCR, trasferirla sull'analizzatore **cobas®** z 480 e avviare la seduta di amplificazione e rilevazione.

Nota: il cronometro interno del cobas® 4800 System registra il tempo trascorso dopo l'aggiunta dei campioni preparati alla soluzione Master Mix attivata. L'amplificazione e la rilevazione devono iniziare il prima possibile e comunque non oltre 90 minuti dopo la fine della seduta sullo strumento cobas® x 480. Nella scheda “Workplace” compare un cronometro del tempo residuo. Il sistema annullerà la seduta allo scadere del tempo.

12. Al termine della seduta di amplificazione e rilevazione, scaricare la piastra per PCR dall'analizzatore **cobas®** z 480.
13. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas®** 4800 System per rivedere e accettare i risultati.

Risultati

Controllo di qualità e validità dei risultati

Ogni seduta deve includere un set di controlli positivi e negativi del test **cobas**® MRSA/SA. Ogni seduta deve generare risultati validi sia per il controllo positivo che per il controllo negativo, affinché il software **cobas**® 4800 possa mostrare i risultati dei campioni sottoposti al test **cobas**® MRSA/SA nella stessa seduta.

Controllo positivo

Il controllo MRSA (+) contiene plasmidi di DNA non infettivo sia di MRSA che di *Staphylococcus aureus*. Il controllo MRSA/SA (+) verifica la regolarità delle fasi di estrazione, amplificazione e rilevazione dell'acido nucleico in una determinata seduta del test. Il risultato del controllo MRSA/SA (+) deve essere "Valid". Se i risultati del controllo MRSA/SA (+) sono costantemente non validi, rivolgersi all'ufficio Roche locale per richiedere assistenza tecnica.

Controllo negativo

Il risultato del controllo (-) deve essere "Valid". Se i risultati del controllo (-) sono costantemente non validi, rivolgersi all'ufficio Roche locale per richiedere assistenza tecnica.

Controllo interno

Il controllo interno (Internal Control, IC) è una molecola del fago lambda che contiene le sequenze e i target randomizzati per i primer e le sonde IC-specifici. Durante la preparazione dei campioni sullo strumento **cobas**® x 480, l'IC viene aggiunto a tutti i campioni e ai controlli (positivi e negativi). L'IC verifica la regolarità delle fasi di estrazione, amplificazione e rilevazione dell'acido nucleico per un determinato tipo di campione. L'IC deve inoltre attestare la validità dei controlli della seduta.

Interpretazione dei risultati

Nota: la validazione di test e sedute compete al software cobas® 4800.

Nota: una seduta valida può includere sia risultati validi che risultati non validi.

Se una seduta è valida, i risultati dei campioni possono essere interpretati con le modalità descritte nella Tabella 1.

Tabella 1 Interpretazione dei risultati del test cobas® MRSA/SA

Test cobas® MRSA/SA	Report e interpretazione dei risultati
Risultato richiesto: "MRSA/SA"	
POS MRSA, POS SA	MRSA positivo, SA positivo Il campione è positivo alla presenza di MRSA e di SA.
NEG MRSA, NEG SA	MRSA negativo*, SA negativo* L'eventuale presenza di MRSA e di SA non è stata rilevata.
NEG MRSA, POS SA	MRSA negativo*, SA positivo L'eventuale presenza di MRSA non è stata rilevata. Il campione è positivo alla presenza di SA.
Invalid MRSA, POS SA	MRSA non valido, SA positivo Il risultato MRSA non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo per ottenere un risultato valido per MRSA. Il campione è positivo alla presenza di SA.
Invalid MRSA, NEG SA	MRSA non valido, SA negativo* Il risultato MRSA non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo per ottenere un risultato valido per MRSA. L'eventuale presenza di SA non è stata rilevata.
NEG MRSA, Invalid SA	MRSA negativo*, SA non valido L'eventuale presenza di MRSA non è stata rilevata. Il risultato SA non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo per ottenere un risultato valido per SA.
Invalid MRSA, Invalid SA	MRSA non valido, SA non valido Risultati non validi per MRSA e SA. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo per ottenere risultati validi per MRSA e SA.
Failed	Nessun risultato per il campione Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per istruzioni sull'interpretazione dei flag e le azioni consigliate. Se è stato rilevato un coagulo e il volume rimanente è sufficiente, agitare il campione di origine in vortex per almeno 10 secondi e ripetere il test per ottenere risultati validi per MRSA e SA.

Tabella 1 Interpretazione dei risultati del test **cobas®** MRSA/SA (continua)

Test cobas® MRSA/SA	Report e interpretazione dei risultati
Risultato richiesto: "MRSA"	
POS MRSA	MRSA positivo Il campione è positivo alla presenza di MRSA.
NEG MRSA	MRSA negativo* L'eventuale presenza di MRSA non è stata rilevata.
Invalid MRSA	MRSA non valido Il risultato MRSA non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo per ottenere un risultato valido per MRSA.
Failed	Nessun risultato per il campione Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per istruzioni sull'interpretazione dei flag e le azioni consigliate. Se è stato rilevato un coagulo e il volume rimanente è sufficiente, agitare il campione di origine in vortex per almeno 10 secondi e ripetere il test per ottenere risultati validi per MRSA.
Risultato richiesto: "SA"	
POS SA	SA positivo Il campione è positivo alla presenza di SA.
NEG SA	SA negativo* L'eventuale presenza di SA non è stata rilevata.
Invalid SA	SA non valido Il risultato SA non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo per ottenere un risultato valido per SA.
Failed	Nessun risultato per il campione Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per istruzioni sull'interpretazione dei flag e le azioni consigliate. Se è stato rilevato un coagulo e il volume rimanente è sufficiente, agitare il campione di origine in vortex per almeno 10 secondi e ripetere il test per ottenere risultati validi per SA.

*Un risultato negativo non esclude la presenza di MRSA e/o SA, poiché i risultati sono influenzati dal metodo di raccolta del campione, dalla presenza o assenza di inibitori e dal volume di DNA da rilevare.

Si potrebbero ottenere risultati non validi se il campione contenesse sostanze inibitorie che impediscono l'estrazione e/o l'amplificazione/rilevazione dell'acido nucleico target. Per un elenco delle sostanze interferenti note, consultare la sezione **"Limiti della procedura"**.

Si potrebbero non ottenere risultati se il campione contiene coaguli che ostacolano la preparazione dei campioni sullo strumento **cobas®** 4800.

Elenco dei flag dei risultati

La tabella seguente riporta gli avvisi (flag) rilevanti ai fini dell'interpretazione dei risultati.

Tabella 2 Elenco dei flag per il test cobas® MRSA/SA

Test cobas® MRSA/SA	Test cobas® MRSA/SA	Report e interpretazione dei risultati
R20	Il controllo positivo non è valido.	Un controllo esterno non è valido. 1. Ripetere l'intera seduta utilizzando reagenti nuovi. 2. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Roche.
R21	Il controllo negativo non è valido.	Un controllo esterno non è valido. 1. Ripetere l'intera seduta utilizzando reagenti nuovi. 2. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Roche.
X3	Errore: rilevato coagulo. Il campione non è stato analizzato.	Verificare che i campioni siano stati manipolati conformemente alla descrizione del flusso di lavoro. 1. Verificare se il campione contiene coaguli. 2. Ripetere l'analisi del campione.
X4	Errore: errore di pipettamento. Il campione non è stato analizzato.	La causa più probabile è che il volume del campione è insufficiente oppure si è verificato un errore meccanico durante il pipettamento. 1. Verificare che il volume del campione sia sufficiente. 2. Verificare che la piastra di espulsione puntali sia nella posizione corretta. 3. Ripetere l'analisi del campione.

Coltura di campioni clinici

Per eseguire i test di suscettibilità antibatterica o di tipizzazione epidemiologica, potrebbe essere necessaria una coltura di campioni clinici dal terreno di raccolta. Per istruzioni sulla coltura, consultare il foglio illustrativo del sistema di raccolta, trasporto e conservazione COPAN MSwab.

Nota: la provetta primaria MSwab deve contenere un volume minimo di campione pari a 700 µl, in caso contrario non è possibile eseguire il test cobas® MRSA/SA. Per prevenire la contaminazione crociata, si consiglia di trattare le provette primarie sul cobas® 4800 System prima di prelevare le aliquote per la coltura batterica. Se le aliquote per produrre una coltura devono essere necessariamente prelevate prima di eseguire il test cobas® MRSA/SA, assicurarsi che rimangano almeno 700 µl di campione e procedere con la massima prudenza durante la manipolazione del campione. Eseguendo il test con un volume inferiore a 700 µl, aumenta il rischio di ottenere risultati falsi negativi.

Limiti della procedura

1. Il test cobas® MRSA/SA è approvato per l'uso esclusivamente con campioni di tamponi nasali prelevati con il sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab.
2. L'affidabilità dei risultati dipende dall'adeguatezza delle procedure di prelievo, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni. Rispettare le procedure descritte nel presente documento di Istruzioni per l'uso (definito anche Foglio illustrativo), nei Fogli illustrativi del sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab e nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

3. L'identificazione di MRSA e SA dipende dal numero di organismi presenti nel campione e può essere condizionata dai metodi di raccolta dei campioni, da fattori legati al paziente (ad esempio, stadio della colonizzazione, ospedalizzazione pregressa, regime di terapia antibiotica, prossimità con un portatore di MRSA) e/o dai ceppi di MRSA/SA.
4. L'interferenza di altre sostanze potrebbe determinare risultati falsi negativi o non validi. L'IC è incluso nel test **cobas**® MRSA/SA perché contribuisce all'identificazione dei campioni che contengono sostanze potenzialmente interferenti con l'estrazione dell'acido nucleico e con l'amplificazione mediante PCR. Segue un elenco di alcune delle sostanze interferenti note:
 - I campioni contenenti oltre il 75% (v/v) di sangue per tampone possono produrre risultati falsi negativi. Non analizzare i campioni di colore rosso scuro o marrone.
 - I campioni contenenti oltre il 10% (p/v) di mucina per tampone possono produrre risultati falsi negativi.
 - I campioni contenenti oltre il 15% (p/v) di gel nasale Rhinaris® per tampone possono generare risultati falsi negativi.
 - I campioni contenenti oltre il 25% (v/v) di Releev per tampone possono produrre risultati falsi negativi.
5. Un risultato positivo è indicativo della presenza del DNA di MRSA, non necessariamente della presenza di organismi vitali. Pertanto un risultato positivo non significa necessariamente che la terapia di eradicazione non è stata efficace. Un risultato negativo dopo un precedente risultato positivo potrebbe indicare che la terapia di eradicazione ha funzionato o potrebbe essere causato da una colonizzazione intermittente.
6. Il test **cobas**® MRSA/SA non rileva direttamente il gene *mecA* o la proteina PBP 2a codificata da tale gene. Si potrebbe ottenere un risultato falso positivo per MRSA in presenza della variante di *Staphylococcus aureus* denominata "empty cassette".
7. Le mutazioni o i polimorfismi nelle regioni di legame al primer o alla sonda possono influenzare l'identificazione di varianti nuove o sconosciute, generando un risultato falso negativo con il test **cobas**® MRSA/SA.
8. Il valore predittivo di un saggio dipende dalla prevalenza della patologia in una determinata popolazione.
9. L'aggiunta dell'enzima AmpErase alla soluzione Master Mix del test **cobas**® 4800 MRSA/SA consente l'amplificazione selettiva del DNA target, tuttavia per evitare la contaminazione dei reagenti e delle miscele di amplificazione è necessario attenersi scrupolosamente alle buone pratiche di laboratorio e alle procedure descritte nel presente foglio illustrativo.
10. L'uso di questo prodotto deve essere consentito esclusivamente a personale adeguatamente addestrato nelle tecniche PCR e nell'uso del **cobas**® 4800 System.
11. Soltanto lo strumento **cobas**® x 480 e l'analizzatore **cobas**® z 480 sono stati approvati per l'uso con questo prodotto. Non è possibile utilizzare altri strumenti per la preparazione dei campioni o sistemi PCR con questo prodotto.
12. A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, è consigliabile che gli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, svolgano studi sulla correlazione tra i metodi nei propri laboratori allo scopo di qualificare tali differenze. Non è dunque prevedibile una concordanza percentuale del 100% tra i risultati, proprio a causa delle differenze descritte tra le tecnologie.
13. La contaminazione crociata può essere la causa di risultati falsi positivi. In uno studio non clinico, le contaminazioni crociate da campione a campione con il test **cobas**® MRSA/SA eseguito sul **cobas**® 4800 System sono state pari allo 0%. È stata studiata anche la contaminazione crociata da seduta a seduta.

Valutazione delle prestazioni non cliniche

Sensibilità analitica

Per determinare la sensibilità analitica del test **cobas**® MRSA/SA sono stati analizzati alcuni isolati di colture di MRSA e di SA a più livelli, con almeno 61 replicati per livello, ed è stato fissato il limite di rilevazione (Limit of detection, LoD). La preparazione dei campioni da analizzare prevedeva l'aggiunta della coltura al tampone FLOQSwab e la successiva incubazione del tampone in una matrice di tampone nasale simulata. La matrice simulata era composta da mucina e cellule umane e imitava l'effetto del fondo del campione nasale clinico sul test **cobas**® MRSA/SA. Tutti i componenti del pannello sono stati analizzati con il test **cobas**® MRSA/SA utilizzando tre lotti di reagenti **cobas**® MRSA/SA. Il limite di rilevazione (LoD) del test è definito come la concentrazione target a cui $\geq 95\%$ dei replicati è risultato positivo al test, sulla base dei risultati generati dal lotto di reagenti con le prestazioni peggiori.

Per lo studio di sensibilità analitica sono stati analizzati due isolati di MRSA e un isolato di SA. Il limite di rilevazione (LoD) del test **cobas**® MRSA/SA per questi isolati è riportato nella Tabella 3.

Tabella 3 Limite di rilevazione (LoD) del test **cobas**® MRSA/SA

Organismo	Origine	ID ordine	Tipo RE	Tipo SCCmec	Tipo spa	PFGE	Valore MIC	Livelli analizzati	LoD (CFU/tampone)
MRSA	NARSA	NRS384	2	IVa	t008	USA300-0114	32	9	650
MRSA	ATCC	43300	2	II	t007	Sac-15	N/D	8	700
SA	NARSA	NRS164	N/D	N/D	t084	N/D	N/D	8	700

N/D = Non disponibile

Rilevazione dei genotipi MRSA e SA

Per verificare i limiti di rilevazione del test **cobas**® MRSA/SA, sono state eseguite 40 repliche del test per livello, a più livelli, su 35 isolati di MRSA e cinque isolati di SA rappresentativi dei genotipi più comuni (inclusi i tipi RE 1, 2, 3, 4, 6, i tipi di MRSA SCCmec I, II, III, IV, V, VI e VIII e i tipi di MRSA caratterizzati mediante elettroforesi a campi pulsati (Pulsed Field Gel Electrophoresis, PFGE) compresi tra USA 100 e 1000). La diversità genetica di MRSA/SA di questa raccolta è coperta da diversi tipi SCCmec, tipi MREJ e tipi spa presenti nella specie *Staphylococcus aureus* in base alla sua struttura filogenetica, nonché dai ceppi rappresentativi di svariati tipi PFGE. Le diluizioni e i campioni di analisi sono stati preparati secondo una modalità simile a quella descritta in precedenza per lo studio sul limite di rilevazione (Limit of Detection, LoD). Nella Tabella 4 e nella Tabella 5 sono riassunti i livelli minimi a cui è stato osservato un tasso di successo pari ad almeno il 95%. I risultati dimostrano che il test **cobas**® MRSA/SA rileva correttamente la presenza di tutti i 35 ceppi di MRSA e i cinque ceppi di SA con un limite LoD compreso tra 175 e 750 CFU/tampone. I ceppi rilevati rappresentano almeno otto tipi SCCmec (I, II, III, IV, V, VI, VIII e nuovo), 10 tipi MREJ, 21 tipi spa, nove tipi PFGE e i valori MIC di cefoxitina tra 8 e >32.

Tabella 4 Limite di rilevazione (LoD) del test cobas® MRSA/SA per i genotipi MRSA

N° dell'isolato di MRSA	Tipo RE	Tipo SCCmec	Tipo spa	Valore MIC	Tipo PFGE	LoD (CFU/tampone)
1	11	nuovo	t002	>32	Sconosciuto	485
2	6	II	t242	>32	Sconosciuto	720
3	9/11	nuovo	t024	16	Sconosciuto	175
4	14	Sconosciuto	Sconosciuto	Sconosciuto	Sconosciuto	700
5	25	Sconosciuto	t003	>32	Sconosciuto	175
6	6	II	t216	>32	USA100	720
7	2	IV	t008	32	USA300	350
8	2	II	t037	32	USA200	700
9	2	IV	t1578	>32	USA300	700
10	2	II	t002	>32	USA100	720
11	2	IV	t008	16	USA800	750
12	2	IV	t008	32	USA300	266
13	2	IV	t064	32	USA500	260
14	2	IV	t148	32	USA700	700
15	2	IV	t688	32	USA800	271
16	2	IV	t688	>32	USA300	700
17	2	II	t042	32	USA100	463
18	2	II	t018	>32	USA200	350
19	2	IV	t008	32	USA300	410
20	2	IV	t008	32	USA300	175
21	2	IV	t5576	32	USA800	202
22	2	II	t004	32	USA600	350
23	2	IV	t216	32	USA1000	350
24	2	IV	t064	32	Iberico	175
25	2	II	t266	>32	USA600	700
26	2	IV	t008	32	USA300	700
27	2	IV	t008	32	USA300	350
28	2	IV	t002	>32	USA800	350
29	3	V	t242	32	USA1000	350
30	24	nuovo	t476	8	Sconosciuto	350
31	1	I	t149	>32	Sconosciuto	175
32	3	VIII	Sconosciuto	16	Sconosciuto	700
33	4	IV	Sconosciuto	12	Sconosciuto	350
34	2	III	t030	>32	Sconosciuto	700
35	25	VI	Sconosciuto	Sconosciuto	Sconosciuto	175

Tabella 5 Limite di rilevazione (LoD) del test **cobas**® MRSA/SA per i genotipi SA

N° dell'isolato di SA	Tipo <i>spa</i>	LoD (CFU/tampone)
1	t238	175
2	t018	175
3	t008	175
4	t002	175
5	t088	175

Inclusività geografica

Oltre ai 37 isolati di MRSA e ai sei isolati di SA compresi negli studi sulla sensibilità analitica e sull'inclusività dei genotipi descritti nei paragrafi precedenti, sono stati analizzati anche 281 isolati di MRSA e 85 isolati di SA raccolti in vari siti geografici, a concentrazioni prossime al limite di rilevazione del test **cobas**® MRSA/SA. La raccolta di 281 isolati di MRSA da 16 Paesi conteneva isolati di MRSA di differenti tipi SCCmec (I, II, III, IV, IVa, V, VI, VII e nuovo), 71 tipi *spa* e valori MIC di cefoxitina tra 6 e >256. La raccolta di 85 isolati di SA provenienti da località geografiche diversificate negli USA conteneva isolati SA appartenenti a 75 tipi *spa* diversi. Il test **cobas**® MRSA/SA ha rilevato tutti gli 85 isolati di SA. Sono stati rilevati 277 isolati di MRSA su un totale di 281. I quattro isolati di MRSA non rilevati dal test **cobas**® MRSA/SA sono stati sequenziati e i risultati suggeriscono che le regioni target contenevano sequenze non riconosciute dai primer e dalle sonde del test **cobas**® MRSA/SA. Uno dei quattro isolati era un ceppo mec ALGA251 (anche denominato mec C). Le origini geografiche dei campioni di MRSA raccolti sono illustrate nella Tabella 6.

Tabella 6 Inclusività geografica del test **cobas**® MRSA/SA

Origine geografica	Numero totale di isolati di MRSA	Identificati dal test cobas ® MRSA/SA
Regno Unito	58	58
Germania	51	51
Danimarca	37	36
Francia	33	31
USA	20	20
Spagna	20	20
Svizzera	18	18
Giappone	15	15
Svezia	7	7
Australia	6	5
Paesi Bassi	5	5
Italia	4	4
Belgio	3	3
Scozia	2	2
Irlanda	1	1
Norvegia	1	1
Totale	281	277

Precisione

Lo studio sulla precisione in-house è stato condotto con due isolati di MRSA e un isolato di SA diluiti in una matrice di tampone nasale simulata a livelli di concentrazione inferiori prossimi e superiori al limite di rilevazione (LoD) del test **cobas**® MRSA/SA. È stato inoltre analizzato un livello negativo costituito solo dalla matrice di tampone nasale simulata. Per lo studio sono stati utilizzati tre lotti unici di reagenti **cobas**® MRSA/SA e tre strumenti per un totale di 36 sedute in 12 giorni. Nella Tabella 7 è riportata una descrizione dei pannelli dello studio di precisione e il tasso di successo. Un'analisi della varianza dei valori soglia (Ct) ottenuti dai test eseguiti sui membri positivi del pannello al di sopra del livello LoD (Tabella 8 e Tabella 9) ha prodotto intervalli CV (%) complessivi compresi tra lo 0,8% e l'1,3% (valore Ct di MRSA) e l'1,2% (valore Ct di SA).

Tabella 7 Analisi del tasso di successo per lo studio di precisione in-house

Membro del pannello	Isolato	Concentrazione target	N. test	N. positivi	Tasso di successo	IC 95%	
						Inferiore	Superiore
1	NRS164 (SA)	< 1 x LoD	71	67	94,4%	86,2%	98,4%
2	NRS164 (SA)	~ 1 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
3	NRS164 (SA)	~ 3 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
4	NRS384 (MRSA)	< 1 x LoD	72	57	79,2%	68,0%	87,8%
5	NRS384 (MRSA)	~ 1 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
6	NRS384 (MRSA)	~ 3 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
7	ATCC43300 (MRSA)	< 1 x LoD	72	63	87,5%	77,6%	94,1%
8	ATCC43300 (MRSA)	~ 1 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
9	ATCC43300 (MRSA)	~ 3 x LoD	72	72	100,0%	95,0%	100,0%
10	Nessuno	Negativa	72	0	0,0%	0,0%	5,0%

Tabella 8 Analisi dei componenti della varianza per i membri del pannello di precisione al di sopra del valore LoD

Ceppo	Ct medio	Componenti varianza/Incidenza percentuale sul totale					Totale
		Lotto	Formato kit	Strumento	Seduta	Random	
NRS 164 (SA)	35,6	0,050	0,023	0,007	0,032	0,082	0,193
		25,9%	11,7%	3,6%	16,5%	42,3%	100,0%
NRS 384 (MRSA)	36,9	0,057	0,003	0,027	0,057	0,101	0,244
		23,2%	1,2%	11,1%	23,3%	41,2%	100,0%
ATCC 43300	38,0	0,003	0,024	0,007	0,010	0,037	0,082
		4,1%	29,6%	8,9%	12,5%	44,9%	100,0%

Tabella 9 Analisi delle deviazioni standard e dei coefficienti di variazione (%) per i membri del pannello dello studio di precisione

Ceppo	Ct medio	Componenti DS/CV (%)					Totale
		Lotto	Formato kit	Strumento	Seduta	Random	
NRS164 (SA)	35,6	0,224	0,150	0,084	0,178	0,286	0,440
		0,6%	0,4%	0,2%	0,5%	0,8%	1,2%
NRS 384 (MRSA)	36,9	0,238	0,054	0,165	0,239	0,317	0,494
		0,6%	0,1%	0,4%	0,6%	0,9%	1,3%
ATCC 43300	38,0	0,058	0,156	0,086	0,102	0,192	0,287
		0,2%	0,4%	0,2%	0,3%	0,5%	0,8%

Inibizione competitiva

Sono stati creati pannelli composti da due isolati di MRSA con una concentrazione target 3 volte superiore al limite di rilevazione (LoD) del test **cobas**® MRSA/SA e da isolati di batteri *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* resistente alla meticillina (MRSE) competitivi a concentrazioni crescenti. La concentrazione crescente di SA o di MRSE non ha influenzato l'identificazione dei target MRSA/SA, come dimostra la stabilità relativa del valore Ct (Tabella 10).

Tabella 10 Studio dell'inibizione competitiva per MRSA da SA (valori Ct)

Organismo in competizione (concentrazione)	Target		
	MRSA 10364	MRSA 8065	SA 10851
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (1 x target)	38,2	38,8	N/D
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (100 x target)	38,1	39,1	N/D
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (10000 x target)	38,4	38,8	N/D
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (1 x target)	38,1	39,0	N/D
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (100 x target)	38,5	39,3	N/D
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (10000 x target)	37,4	39,0	N/D
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (1 x target)	37,9	39,5	36,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (100 x target)	38,6	38,6	36,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (10000 x target)	38,1	39,7	37,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (1 x target)	39,0	40,1	36,9
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (100 x target)	38,4	39,1	36,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (10000 x target)	38,3	39,7	36,7

Specificità analitica

Per valutare la specificità analitica del test **cobas**® MRSA/SA sono stati analizzati i seguenti pannelli: 1) 92 batteri, funghi e virus comunemente presenti nei campioni di tamponi nasali (Tabella 11); 2) cellule umane (Tabella 11); 3) 43 esemplari di *Staphylococcus* coagulasi-negativo (CoNS) e di *Staphylococcus* meticillino-resistente coagulasi-negativo (MR-CoNS) (Tabella 12); 4) 10 isolati di SA borderline meticillino-resistente (BORSA) e due isolati di SA solo per la specificità di MRSA (Tabella 13).

Tutti i batteri e le cellule umane sono stati aggiunti a una concentrazione di 1×10^6 unità*/ml o maggiore (ad eccezione della *Chlamydia pneumoniae*) e tutti i virus sono stati aggiunti alla concentrazione massima consentita dai rispettivi stock (1×10^5 unità*/ml, ad eccezione dell'adenovirus 1 e del virus dell'influenza A/H1N1). I test sono stati eseguiti con gli organismi da soli o in presenza di due isolati di MRSA e di un isolato di SA a una concentrazione $3 \times \text{LoD}$ del test **cobas**® MRSA/SA. I risultati dimostrano che nessuno degli organismi esaminati ha interferito con l'identificazione dei target di MRSA o SA previsti. Non è stato prodotto nessun risultato falso positivo da campioni in cui non era prevista la presenza del target MRSA/SA.

*La quantificazione di tutti i batteri è espressa in CFU (unità formanti colonie), ad eccezione della *Chlamydia pneumoniae*, espressa in copie di DNA. La quantificazione del metapneumovirus umano è espressa in particelle virali. Sono invece quantificati in unità formanti placca (PFU): adenovirus 1, 7 e 40, enterovirus umano, HSV1, influenza A/H3N2A/Hong Kong/8/68, virus del morbillo, virus della parotite, parainfluenza 1, parainfluenza 2 e parainfluenza 3, coronavirus 229E, coronavirus OC43, citomegalovirus e rinovirus. La quantificazione dei virus RSV A e RSV B è espressa in TCID₅₀. La quantificazione dei virus dell'Influenza A/H1N1 e dell'Influenza B è espressa in EID₅₀. La quantificazione del Virus Epstein-Barr (EBV) è espressa in copie.

Tabella 11 Microorganismi comunemente presenti nella flora nasale, analizzati ai fini della specificità analitica

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (produttrice di KPC) ATCC 700603	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (produttrice di KPC) ATCC BAA1900	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Lactobacillus crispus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Leifsonia aquatica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Adenovirus 40</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Microbacterium testaceum</i>	<i>Coronavirus 229E</i>
<i>Chlamydia pneumoniae*</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Coronavirus OC43</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Citomegalovirus</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis avirulento</i>	<i>Virus di Epstein Barr</i>
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>HSV 1</i>
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Mycoplasma salivarium</i>	<i>Adenovirus umano tipo 1*</i>
<i>Corynebacterium flavescens</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Adenovirus umano tipo 7A</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Parvimonas micra</i>	<i>Enterovirus umano 71</i>
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Pasteurella aerogenes</i>	<i>Metapneumovirus umano</i>
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Planococcus maritimus</i>	<i>Influenza A/H1N1</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Virus dell'influenza A/H3N2 A/ Hong Kong/8/68</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Influenza B</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Virus del morbillo</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Virus della parotite</i>
<i>Enterococcus flavescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Parainfluenza 1</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Rhodococcus equi</i>	<i>Parainfluenza 2</i>
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Rothia mucilaginosa</i>	<i>Parainfluenza 3</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica subsp. Enterica</i>	<i>Rhinovirus tipo 1A</i>
<i>Fingoldia magna</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>RSV A</i>
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>RSV B</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Cellule HCT-15 (DNA genomico umano)</i>

* Il batterio *Chlamydia pneumoniae* è stato analizzato a $1,0 \times 10^5$ copie/ml e l'adenovirus tipo 1 a $1,0 \times 10^4$ PFU/ml.

Tabella 12 Organismi CoNS e MR-CoNS strettamente correlati, analizzati per la specificità

<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC27676 (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
<i>Staphylococcus auricularis</i> (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>
<i>Staphylococcus caprae</i> (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus felis</i>	<i>Staphylococcus pulvereri</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Staphylococcus carnosus</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC29970	<i>Staphylococcus schleiferi</i>
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC29968 (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC43252	<i>Staphylococcus simulans</i> ATCC27848 (meticillino-resistente)
<i>Staphylococcus delphini</i>	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC25615	<i>Staphylococcus simulans</i> ATCC11631
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC14990 (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC35982	<i>Staphylococcus warneri</i> ATCC27836 (meticillino-resistente)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35547 (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC27844	<i>Staphylococcus warneri</i> ATCC27839 (meticillino-resistente)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35983 (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC27845	<i>Staphylococcus warneri</i> RMSCC1224
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35984 (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i> ATCC35663
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC51624 (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus kloosii</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i> ATCC29971
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC51625 (meticillino-resistente)	<i>Staphylococcus lentus</i>	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC700583	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	-

Tabella 13 Isolati di SA e BORSA analizzati per la specificità di MRSA

<i>Staphylococcus aureus</i> 10851	<i>Staphylococcus aureus</i> 10323 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852	<i>Staphylococcus aureus</i> 10324 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10319 (BORSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> 10325 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10320 (BORSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> 10326 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10321 (BORSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> 10327 (BORSA)
<i>Staphylococcus aureus</i> 10322 (BORSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> 10328 (BORSA)

Interferenze

Per studiare le potenziali interferenze con il test **cobas**® MRSA/SA, sono stati analizzati 25 farmaci per naso e gola comunemente utilizzati, oltre a sangue intero e mucina. Tutte le sostanze sono state analizzate a livelli superiori a quelli verosimilmente raccolti da un normale tampone nasale. La quantità della sostanza interferente è espressa come percentuale della quantità massima che un tampone può assorbire o contenere. Due isolati di MRSA e un isolato di SA sono stati arricchiti a una concentrazione pari a 3 volte il limite di rilevazione (LoD) del test **cobas**® MRSA/SA e sono stati utilizzati come target nei test. Non sono state riscontrate interferenze fino al 100% della capacità del tampone di assorbire sostanze esogene, tranne nel caso del Relenza® (nessuna interferenza fino al 6,25% della capacità del tampone), del gel nasale Rhinaris® (nessuna interferenza fino al 15% della capacità del tampone) e del Releev (nessuna interferenza fino al 25% della capacità del tampone). È opportuno sottolineare che il Relenza® è stato analizzato soltanto fino al 6,25% della capacità del tampone perché questa è la concentrazione massima di una normale applicazione del farmaco secondo prescrizione medica. Per il sangue intero non è stata rilevata nessuna interferenza fino al 75% della capacità del tampone; per la mucina non è stata rilevata nessuna interferenza fino al 10% della capacità del tampone. I risultati sono riassunti nella Tabella 14.

Tabella 14 Risultati dei test con le sostanze interferenti

Sostanza	Risultati
Sangue intero	Nessuna interferenza fino al 75% della capacità del tampone
Mucina	Nessuna interferenza fino al 10% della capacità del tampone
Afrin, spray nasale	Nessuna interferenza
Beconase, spray nasale	Nessuna interferenza
Bepanthen®, unguento nasale	Nessuna interferenza
Chloraseptic Max, pastiglie per mal di gola	Nessuna interferenza
Fluticasone propionato (50 mcg), spray nasale	Nessuna interferenza
FluMist® (Afluria, vaccino antinfluenzale)	Nessuna interferenza
Flunisolide, soluzione nasale USP 0,025%	Nessuna interferenza
Mupirocina, unguento	Nessuna interferenza
Dristan™, soluzione nasale nebulizzata	Nessuna interferenza
Luffeel™	Nessuna interferenza
Triamcinolone acetone, spray nasale	Nessuna interferenza
NasalCrom, spray nasale	Nessuna interferenza
Nasonex, spray nasale	Nessuna interferenza
Neo-Sinefrina	Nessuna interferenza
Otrivin, spray nasale	Nessuna interferenza
Relenza®	Nessuna interferenza fino al 6,25% della capacità del tampone*
Budesonide, sospensione per inalazione 0,25 mg/2 ml	Nessuna interferenza
Azelastina cloridrato, soluzione nasale	Nessuna interferenza
Equate, spray nasale salino idratante	Nessuna interferenza
Rhinaris®, gel nasale	Nessuna interferenza fino al 15% della capacità del tampone
Tobramicina e Desametasone, soluzione oftalmica	Nessuna interferenza
Releev (per le ferite da raffreddore)	Nessuna interferenza fino al 25% della capacità del tampone
Zicam, gel nasale	Nessuna interferenza
QVAR (40 mcg), aerosol per inalazione	Nessuna interferenza
Nostrilla	Nessuna interferenza

* Questa concentrazione rappresenta la quantità massima in una singola applicazione del farmaco Relenza® secondo prescrizione medica.

Prestazioni cliniche con i campioni clinici

Le prestazioni del test **cobas**® MRSA/SA sono state valutate rispetto a quelle di uno tra i più avanzati test di amplificazione degli acidi nucleici (Nucleic Acid Tests, NAT) a scopo di comparazione, provvisto di approvazione FDA e marchio CE, utilizzando come metodo di riferimento una coltura batterica diretta/di arricchimento combinata. Sono stati prelevati due campioni di tamponi nasali da ogni soggetto arruolato nello studio. Il campione destinato al test **cobas**® MRSA/SA è stato prelevato con il sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab; il campione destinato al test comparativo è stato prelevato con tamponi in terreno di trasporto Liquid Stuart. Il campione MSwab è stato utilizzato per inoculare una piastra per ciascun terreno cromogenico selettivo e differenziale per MRSA e SA (coltura diretta), oltre a una provetta contenente brodo di soia triptico (Trypticase Soy Broth, TSB) con cloruro di sodio (NaCl) 6,5% per l'arricchimento notturno (coltura di arricchimento). Per la coltura di arricchimento è stata quindi predisposta una piastra su terreno cromogenico. La presunta positività delle colonie SA sulle piastre cromogeniche è stata confermata mediante un test di agglutinazione al lattice (Staphraurex®, Remel Microbiology Products, Thermo Scientific, Inc.). La presunta positività delle colonie MRSA è stata ulteriormente confermata mediante un test di disco-diffusione di cefoxitina.

In totale sono stati arruolati 383 soggetti in due siti dell'UE. Quattro soggetti sono stati esclusi perché i risultati di uno dei test erano incompleti. Dalla coltura diretta/di arricchimento combinata sono stati ottenuti 27 campioni positivi a MRSA e 144 campioni positivi a SA (prevalenza: MRSA 7,1%, SA 38,0%). Nella Tabella 15 sono illustrate le prestazioni del test **cobas**® MRSA/SA e del test NAT comparativo rispetto alla coltura diretta.

Tabella 15 Test **cobas**® MRSA/SA e test NAT comparativo a confronto con la coltura diretta

MRSA		Coltura diretta	
		Positivi	Negativi
cobas ® MRSA/SA	Positivi	15	18
	Negativi	1	345
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Sensibilità	94%	70%	100%
Specificità	95%	92%	97%

SA		Coltura diretta	
		Positivi	Negativi
cobas ® MRSA/SA	Positivi	121	29
	Negativi	5	224
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Sensibilità	96%	91%	99%
Specificità	89%	84%	92%

MRSA		Coltura diretta	
		Positivi	Negativi
Test NAT comparativo	Positivi	14	16
	Negativi	2	347
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Sensibilità	88%	62%	98%
Specificità	96%	93%	97%

SA		Coltura diretta	
		Positivi	Negativi
Test NAT comparativo	Positivi	122	31
	Negativi	4	222
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Sensibilità	97%	92%	99%
Specificità	88%	83%	92%

Nella Tabella 16 sono illustrate le prestazioni del test **cobas**® MRSA/SA e del test NAT comparativo rispetto alla coltura diretta/di arricchimento. In questa analisi, un risultato positivo in base alla coltura diretta o di arricchimento viene considerato positivo. Un risultato è da considerarsi negativo soltanto se anche nella coltura diretta e nella coltura di arricchimento il risultato è negativo.

Tabella 16 Test cobas® MRSA/SA e test NAT comparativo a confronto con la coltura diretta/di arricchimento

MRSA		Coltura diretta/ di arricchimento	
		Positivi	Negativi
cobas® MRSA/SA	Positivi	25	8
	Negativi	2	344
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Sensibilità	93%	76%	99%
Specificità	98%	96%	99%

SA		Coltura diretta/ di arricchimento	
		Positivi	Negativi
cobas® MRSA/SA	Positivi	137	13
	Negativi	7	222
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Sensibilità	95%	90%	98%
Specificità	94%	91%	97%

MRSA		Coltura diretta/ di arricchimento	
		Positivi	Negativi
Test NAT comparativo	Positivi	24	6
	Negativi	3	346
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Sensibilità	89%	71%	98%
Specificità	98%	96%	99%
NPV	99%	98%	100%
PPV	80%	61%	92%

SA		Coltura diretta/ di arricchimento	
		Positivi	Negativi
Test NAT comparativo	Positivi	138	15
	Negativi	6	220
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Sensibilità	96%	91%	98%
Specificità	94%	90%	96%
NPV	97%	94%	99%
PPV	90%	84%	94%

Infine nella Tabella 17 sono illustrate le prestazioni del test cobas® MRSA/SA in un confronto diretto con il test NAT comparativo dotato di approvazione FDA e marchio CE.

Tabella 17 Test cobas® MRSA/SA a confronto con il test NAT comparativo

MRSA		Test NAT comparativo	
		Positivi	Negativi
cobas® MRSA/SA	Positivi	28	5
	Negativi	2	344
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Concordanza positiva	93%	78%	99%
Concordanza negativa	99%	97%	100%

SA		Test NAT comparativo	
		Positivi	Negativi
cobas® MRSA/SA	Positivi	144	6
	Negativi	9	220
	Stima	LL IC 95%	UL IC 95%
Concordanza positiva	94%	89%	97%
Concordanza negativa	97%	94%	99%

Riproducibilità

La riproducibilità del **cobas**® MRSA/SA Test sul **cobas**® 4800 System è stata determinata in uno studio investigativo multi-sito svolto con campioni clinici preparati artificialmente e valutati con riferimento a vari lotti, siti/strumenti, operatori, giorni e sedute.

I pannelli del test di riproducibilità MRSA/SA sono stati preparati arricchendo una matrice di campioni preparata artificialmente (campioni nasali MSwab clinici simulati, con mucina e cellule epiteliali umane) con i ceppi MRSA NRS384 (MRSA-384) e ATCC 43300 (MRSA-43300), o il ceppo SA RMSCC 10851, a ciascun livello di concentrazione tra i tre previsti: < LoD, 1 × LoD e 3 × LoD. Un componente del pannello negativo per MRSA/SA è stato incluso come controllo del pannello. Complessivamente in ogni seduta sono stati inclusi 10 componenti per ogni pannello del test, con 3 repliche per componente del pannello per seduta. I pannelli sono stati testati presso 3 siti da 2 operatori per ogni sito, con 1 seduta al giorno per ogni operatore, per 5 giorni per ogni lotto, utilizzando 2 lotti, per un totale di 1800 test (180 test per ogni componente del pannello oppure 90 test/componente del pannello/lotto). In totale sono state eseguite 60 sedute, tutte valide. Nessun test è fallito o è risultato non valido.

Risultati della riproducibilità per MRSA

La Tabella 18 riassume i risultati della riproducibilità per MRSA per quanto riguarda i valori Ct e la concordanza percentuale (IC esatto al 95% bilaterale), in base al sito e al componente del pannello. La concordanza percentuale positiva per i componenti del pannello positivi per MRSA, “< LoD MRSA-384” e “< LoD MRSA-43300”, è stata rispettivamente dell'85,6% (IC al 95%: tra 79,6% e 90,3%) e dell'87,2% (IC al 95%: tra 81,4% e 91,7%); la concordanza percentuale positiva per tutti gli altri componenti del pannello positivi per MRSA è stata del 100,0% (IC al 95%: tra 98,0% e 100,0%). La DS totale e il CV totale (%) dei valori Ct per tutti i componenti del pannello positivi per MRSA sono stati rispettivamente ≤ 0,51% e ≤ 1,4%.

Tabella 18 Riepilogo dei risultati della riproducibilità per MRSA - valori Ct e concordanza percentuale per sito e componente del pannello

Componente del pannello	Risultati del test validi (n)	Ct			Concordanza percentuale per sito (n/N) ^a			Concordanza totale	
		Media	DS	CV (%)	1	2	3	Percentuale (n/N)	(IC 95%) ^b
Negativi	180	N/A	N/A	N/A	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
< LoD MRSA-384	180	40,3	0,43	1,1	95,0 (57/60)	83,3 (50/60)	78,3 (47/60)	85,6% (154/180)	(79,6%, 90,3%)
1 × LoD MRSA-384	180	38,0	0,49	1,3	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
3 × LoD MRSA-384	180	36,3	0,44	1,2	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
< LoD MRSA-43300	180	40,4	0,40	1,0	91,7 (55/60)	81,7 (49/60)	88,3 (53/60)	87,2% (157/180)	(81,4%, 91,7%)
1 × LoD MRSA-43300	180	38,9	0,45	1,1	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
3 × LoD MRSA-43300	180	37,4	0,51	1,4	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)

^a Per il componente del pannello negativo, concordanza percentuale = (numero di risultati negativi ÷ totale risultati validi) × 100;
per i componenti del pannello positivi, concordanza percentuale = (numero di risultati positivi ÷ totale risultati validi) × 100.

^b IC al 95% = intervallo di confidenza bilaterale esatto al 95%, in base alla distribuzione binomiale.

IC = intervallo di confidenza; Ct = ciclo soglia; CV = coefficiente di variazione; LoD = limite di sensibilità;

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina; MRSA-384 = *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina

ceppo NRS384; MRSA-43300 = *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina ceppo ATCC 43300; N/A = non applicabile;

SA = *Staphylococcus aureus*.

La Tabella 19 mostra la DS e il CV (%) dei valori Ct per i componenti del pannello positivi per MRSA, sia in generale che in relazione a lotto, sito/strumento, operatore, giorno e seduta.

Tabella 19 Media complessiva, deviazioni standard e coefficienti di variazione (%) per i valori Ct ottenuti dai risultati validi per i componenti del pannello positivi - MRSA

MRSA			Deviazione standard e coefficiente di variazione percentuale											
			Lotto		Sito/Strum.		Operatore		Giorno		Stessa seduta		Totale	
Componente del pannello	N	Ct medio	DS	CV	DS	CV	DS	CV	DS	CV	DS	CV	DS	CV
< LoD MRSA-384	154	40,3	0,00	0,0%	0,06	0,2%	0,00	0,0%	0,23	0,6%	0,36	0,9%	0,43	1,1%
1 × LoD MRSA-384	180	38,0	0,07	0,2%	0,18	0,5%	0,00	0,0%	0,17	0,5%	0,41	1,1%	0,49	1,3%
3 × LoD MRSA-384	180	36,3	0,12	0,3%	0,20	0,6%	0,02	0,1%	0,15	0,4%	0,35	1,0%	0,44	1,2%
< LoD MRSA-43300	157	40,4	0,03	0,1%	0,07	0,2%	0,06	0,1%	0,02	0,0%	0,39	1,0%	0,40	1,0%
1 × LoD MRSA-43300	180	38,9	0,00	0,0%	0,11	0,3%	0,00	0,0%	0,19	0,5%	0,39	1,0%	0,45	1,1%
3 × LoD MRSA-43300	180	37,4	0,13	0,4%	0,24	0,6%	0,12	0,3%	0,10	0,3%	0,40	1,1%	0,51	1,4%

Ct = ciclo soglia; CV = coefficiente di variazione; Strum. = strumento; LoD = limite di sensibilità; MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina; MRSA-384 = *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina ceppo NRS384; MRSA-43300 = *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina ceppo ATCC 43300; DS = deviazione standard.

Risultati della riproducibilità per SA

La Tabella 20 riassume i risultati della riproducibilità per SA per quanto riguarda i valori Ct e la concordanza percentuale (IC bilaterale esatto al 95%), in base al sito e al componente del pannello. La concordanza percentuale positiva per i componenti del pannello positivi per SA “< LoD SA,” “1 × LoD SA” e “3 × LoD SA” è stata rispettivamente del 50,0% (IC al 95%: tra 42,5% e 57,5%), del 99,4% (IC al 95%: tra 96,9% e 100,0%) e del 100,0% (IC al 95%: tra 98,0% e 100,0%). La DS totale e il CV totale (%) dei valori Ct per tutti i componenti del pannello positivi per SA sono stati rispettivamente ≤ 0,49% e ≤ 1,3%. La concordanza percentuale negativa per i componenti del pannello negativi per MRSA/SA è stata del 100,0% (IC al 95%: tra 98,0% e 100,0%).

Tabella 20 Riepilogo dei risultati della riproducibilità per SA - valori Ct e concordanza percentuale per sito e componente del pannello

Componente del pannello	Risultati del test validi (n)	Ct			Concordanza percentuale per sito (n/N) ^a			Concordanza totale	
		Media	DS	CV (%)	1	2	3	Percentuale (n/N)	(IC 95%) ^b
Negativi	180	N/A	N/A	N/A	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)
< LoD SA	180	38,6	0,46	1,2	23,3 (14/60)	60,0 (36/60)	66,7 (40/60)	50,0% (90/180)	(42,5%, 57,5%)
1 × LoD SA	180	36,8	0,49	1,3	100,0 (60/60)	98,3 (59/60)	100,0 (60/60)	99,4% (179/180)	(96,9%, 100,0%)
3 × LoD SA	180	35,1	0,38	1,1	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0 (60/60)	100,0% (180/180)	(98,0%, 100,0%)

^a Per il componente del pannello negativo, concordanza percentuale = (numero di risultati negativi ÷ totale risultati validi) × 100;
per i componenti del pannello positivi, concordanza percentuale = (numero di risultati positivi ÷ totale risultati validi) × 100.

^b IC al 95% = intervallo di confidenza bilaterale esatto al 95%, in base alla distribuzione binomiale.

IC = intervallo di confidenza; Ct = ciclo soglia; CV = coefficiente di variazione; LoD = limite di sensibilità; N/A = non applicabile;
SA = *Staphylococcus aureus*.

La Tabella 21 mostra la DS e il CV (%) dei valori Ct per i componenti del pannello positivi per SA, sia in generale, sia in relazione a lotto, sito/strumento, operatore, giorno e nella stessa seduta.

Tabella 21 Media complessiva, deviazioni standard e coefficienti di variazione (%) per i valori Ct ottenuti dai risultati validi per i componenti del pannello positivi per SA

SA			Deviazione standard e coefficiente di variazione percentuale											
			Lotto		Sito/Strum.		Operatore		Giorno		Stessa seduta		Totale	
Componente del pannello	N	Ct medio	DS	CV	DS	CV	DS	CV	DS	CV	DS	CV	DS	CV
< LoD SA	90	38,6	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,46	1,2%	0,46	1,2%
1 × LoD SA	179	36,8	0,14	0,4%	0,29	0,8%	0,13	0,3%	0,16	0,4%	0,31	0,8%	0,49	1,3%
3 × LoD SA	180	35,1	0,11	0,3%	0,14	0,4%	0,12	0,3%	0,02	0,1%	0,31	0,9%	0,38	1,1%

Ct = ciclo soglia; CV = coefficiente di variazione; LoD = limite di sensibilità; SA = *Staphylococcus aureus*; DS = deviazione standard.

Prestazioni cliniche

Le prestazioni cliniche del **cobas**® MRSA/SA Test sono state determinate in uno studio investigativo multi-sito, prospettico, approvato dall'IRB, nel quale i risultati del test sono stati confrontati con i risultati ottenuti da una coltura cromogenica diretta e da una combinazione tra coltura cromogenica diretta e terreni di arricchimento. A tale scopo sono stati impiegati i tamponi nasali prelevati da soggetti di sesso maschile e femminile idonei.

I campioni sono stati raccolti presso sei siti geografici diversi negli USA. Da ogni soggetto sono stati raccolti uno o due tamponi: un tampone destinato ai test standard di laboratorio (se applicabili) e l'altro, un tampone MSwab (Copan Flock Technologies Srl., Brescia, Italia), destinato al **cobas**® MRSA/SA Test e alla coltura diretta e di arricchimento combinate.

Il **cobas**® MRSA/SA Test è stato eseguito presso tre siti; la coltura diretta e di arricchimento è stata eseguita presso un laboratorio di riferimento specializzato in colture e rilevazione molecolare di MRSA e SA resistenti alla meticillina. In sintesi, un'aliquota di 100 µl di campione MSwab ottenuto da ogni soggetto è stata trasferita direttamente su una piastra ciascuna di terreni cromogenici elettivi e differenziali per MRSA e SA (coltura diretta) e in una provetta contenente brodo di soia triptico (*Tryptic Soy Broth*: TSB) con NaCl 6,5% (coltura di arricchimento). Con gli isolati sospetti e le colture con brodo di arricchimento positive sono state create delle sottocolture su agar sangue di pecora al 5% e gli isolati sono stati identificati come SA mediante la colorazione Gram e i test di agglutinazione al lattice. I presunti isolati di MRSA sono stati confermati utilizzando un test di diffusione su disco di cefoxitina (Kirby-Bauer) per la resistenza alla meticillina.

Un campione positivo da coltura di MRSA/SA è stato identificato come campione positivo per MRSA/SA mediante la coltura diretta o la coltura di arricchimento. Un campione negativo da coltura di MRSA/SA è stato identificato come campione negativo per MRSA/SA mediante sia la coltura diretta, sia la coltura di arricchimento.

Su tutti i campioni con risultati discordanti e su un sottoinsieme di campioni con risultati concordanti, selezionati in modo random e inclusi come controlli, è stata eseguita l'analisi della discrepanza tra il **cobas**® MRSA/SA Test e la coltura diretta e di arricchimento. A tale scopo sono stati impiegati un secondo test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) approvato dalla FDA e una coltura diretta e di arricchimento non selettiva. In sintesi, un'aliquota di 100 µl del campione MSwab residuo (avanzato) è stata trasferita su una piastra di agar cioccolato (coltura diretta non selettiva) e una seconda aliquota di 100 µl è stata trasferita in un brodo TSB senza NaCl (coltura di arricchimento non selettiva). Gli isolati recuperati dalla coltura diretta e di arricchimento non selettiva erano caratterizzati nel modo descritto; inoltre, l'identificazione degli isolati atipici, sospetti, è stata confermata mediante un saggio PCR sviluppato in laboratorio per i geni *femA* e *mecA*, secondo la prassi consolidata del laboratorio di riferimento.

Risultati

Sono stati raccolti i campioni di 2528 soggetti, con 2504 (99,1%) risultati considerati valutabili da 1372 maschi (54,8%) e 1132 (45,2%) femmine. La maggioranza dei soggetti aveva > 50 anni (67,2%), in una fascia di età compresa tra 18 e 101 anni (età mediana = 57). In totale c'erano 160 campioni positivi per MRSA e 660 campioni positivi per SA.

Confronto tra le prestazioni del **cobas**® MRSA/SA Test e le prestazioni della coltura diretta e di arricchimento combinate (metodo di riferimento)

La Tabella 22 mostra un confronto tra le prestazioni del **cobas**® MRSA/SA Test e le prestazioni della coltura diretta e di arricchimento combinate, sulla base di 2500 risultati per MRSA e 2501 risultati per SA idonei alla valutazione.

Rispetto alla coltura diretta e di arricchimento combinate, la sensibilità e la specificità per MRSA sono rispettivamente del 93,1% (149 su 160) e del 97,5% (2281 su 2340); per quanto riguarda prevalenza, PPV e NPV, i valori sono rispettivamente 6,4%, 71,6% e 99,5%.

Rispetto alla coltura diretta e di arricchimento combinate, la sensibilità e la specificità per SA sono rispettivamente del 93,9% (620 su 660) e del 94,2% (1734 su 1841); per quanto riguarda prevalenza, PPV e NPV, i valori sono rispettivamente 26,4%, 85,3% e 97,7%.

Tabella 22 Confronto fra i risultati del **cobas®** MRSA/SA Test e i risultati della coltura diretta e di arricchimento (metodo di riferimento)

		Coltura diretta e di arricchimento (metodo di riferimento)					
		MRSA			SA		
		Positivo	Negativi	Totale	Positivo	Negativi	Totale
Test cobas® MRSA/SA	Positivo	149	59	208	620	107	727
	Negativi	11	2281	2292	40	1734	1774
	Totale	160	2340	2500	660	1841	2501
<p>MRSA</p> <p>Sensibilità: 93,1% (149/160) (IC 95%: 88,1-96,1%)</p> <p>Specificità: 97,5% (2281/2340) (IC 95%: 96,8-98,0%)</p> <p>Prevalenza: 6,4%</p> <p>PPV: 71,6%</p> <p>NPV: 99,5%</p> <p>SA</p> <p>Sensibilità: 93,9% (620/660) (IC 95%: 91,9-95,5%)</p> <p>Specificità: 94,2% (1734/1841) (IC 95%: 93,0-95,2%)</p> <p>Prevalenza: 26,4%</p> <p>PPV: 85,3%</p> <p>NPV: 97,7%</p>							

Nota: i soggetti con risultati validi sia in base alla coltura diretta che in base al **cobas®** MRSA/SA Test sono considerati idonei alla valutazione e sono inclusi in questa tabella.

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina; NPV = valore predittivo negativo;

PPV = valore predittivo positivo; SA = *Staphylococcus aureus*.

Confronto tra i risultati del **cobas®** MRSA/SA Test e la coltura diretta

La Tabella 23 mostra un confronto tra i risultati del **cobas®** MRSA/SA Test e i risultati della coltura diretta, sulla base di 2504 risultati idonei alla valutazione.

Rispetto alla coltura diretta, la concordanza percentuale totale, positiva e negativa del **cobas®** MRSA/SA Test per MRSA sono rispettivamente del 96,9% (2427 su 2504), del 97,1% (135 su 139) e del 96,9% (2292 su 2365); e la prevalenza è del 5,6%.

Rispetto alla coltura diretta, la concordanza percentuale totale, positiva e negativa del **cobas®** MRSA/SA Test per SA sono rispettivamente del 93,3% (2336 su 2504), del 97,0% (577 su 595) e del 92,1% (1759 su 1909); e la prevalenza è del 23,8%.

Tabella 23 Confronto tra i risultati del **cobas®** MRSA/SA Test e i risultati della coltura diretta

		Coltura diretta					
		MRSA			SA		
		Positivo	Negativi	Totale	Positivo	Negativi	Totale
Test cobas® MRSA/SA	Positivo	135	73	208	577	150	727
	Negativi	4	2292	2296	18	1759	1777
	Totale	139	2365	2504	595	1909	2504
<p style="text-align: center;">MRSA</p> Concordanza percentuale positiva: 97,1% (135/139) (IC 95%: 92,8-98,9%) Concordanza percentuale negativa: 96,9% (2292/2365) (IC 95%: 96,1-97,5%) Concordanza percentuale totale: 96,9% (2427/2504) (IC 95%: 96,2-97,5%) Prevalenza: 5,6%							
<p style="text-align: center;">SA</p> Concordanza percentuale positiva: 97,0% (577/595) (IC 95%: 95,3-98,1%) Concordanza percentuale negativa: 92,1% (1759/1909) (IC 95%: 90,8-93,3%) Concordanza percentuale totale: 93,3% (2336/2504) (IC 95%: 92,2-94,2%) Prevalenza: 23,8%							

Nota: i soggetti con risultati validi sia in base alla coltura diretta che in base al **cobas®** MRSA/SA Test sono considerati idonei alla valutazione e sono inclusi in questa tabella.

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina; SA = *Staphylococcus aureus*.

Analisi della discrepanza dei campioni discordanti e concordanti

Su tutti i campioni discordanti (Tabella 22) e su un sottoinsieme di campioni concordanti, selezionati in modo random e inclusi come controlli, è stata eseguita l'analisi della discrepanza tra il **cobas®** MRSA/SA Test e la coltura diretta e di arricchimento combinate (metodo di riferimento). A tale scopo sono stati impiegati un secondo test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) approvato dalla FDA e una coltura diretta e di arricchimento non selettiva.

In totale c'erano 70 campioni con risultati discordanti per MRSA: 11 risultati falsi negativi per MRSA e 59 risultati falsi positivi per MRSA (Tabella 22). Su 11 campioni falsi negativi per MRSA, 5 sono risultati negativi per MRSA con un secondo metodo NAAT e con la coltura diretta e di arricchimento non selettiva. Dei 59 campioni falsi positivi per MRSA, 20 sono risultati positivi per MRSA con un secondo metodo NAAT o con la coltura diretta e arricchita non selettiva.

In totale c'erano 147 campioni con risultati discordanti per SA: 40 risultati falsi negativi per SA e 107 risultati falsi positivi per SA (Tabella 22). Su 40 campioni falsi negativi per SA, 31 sono risultati negativi per SA con un secondo metodo NAAT e con la coltura diretta e di arricchimento non selettiva. Su 107 campioni falsi positivi per SA, 24 sono risultati positivi per SA con un secondo metodo NAAT o con la coltura diretta e arricchita non selettiva.

Come controlli, nell'analisi della discrepanza sono stati inclusi 74 campioni concordanti selezionati in modo random: 25 campioni positivi per MRSA, 25 campioni negativi per SA e 24 campioni positivi per SA/negativi per MRSA concordanti. Su 74 controlli, tutti i 25 campioni positivi per MRSA sono risultati positivi per MRSA in base a un secondo metodo NAAT o in base alla coltura diretta e/o di arricchimento; tutti i 25 campioni negativi per SA sono risultati negativi per SA in base a un secondo metodo NAAT e in base alla coltura diretta e di arricchimento non selettiva; e su 24 campioni positivi per SA, 21 campioni sono risultati positivi per SA in base a un secondo metodo NAAT o in base alla coltura diretta e/o di arricchimento non selettiva, 1 campione è risultato positivo per MRSA in base alla coltura di arricchimento non selettiva e 2 campioni sono risultati negativi per SA in base a un secondo metodo NAAT e in base alla coltura diretta e di arricchimento non selettiva.

Valori attesi

Prevalenza

La prevalenza di portatori nasali di MRSA e SA dipende da una serie di fattori, tra cui la residenza in un reparto di assistenza a lungo termine, una precedente infezione o colonizzazione da MRSA, diabete mellito, un contatto ravvicinato con un portatore di MRSA/SA e l'uso pregresso di antibiotici. Rispetto alla coltura diretta e di arricchimento combinate, la prevalenza totale per MRSA e SA osservata con il **cobas**® MRSA/SA Test durante una sperimentazione clinica multicentrica è stata rispettivamente del 6,4% e del 26,4%.

Valori ipotetici predittivi di risultati positivi e negativi del **cobas**® MRSA/SA Test per MRSA

La Tabella 24 mostra i valori ipotetici predittivi di risultati positivi e negativi (PPV e NPV), ottenuti da percentuali di portatori comprese tra l'1 e il 30%, per il **cobas**® MRSA/SA Test per MRSA. Rispetto alla coltura diretta e di arricchimento combinate (metodo di riferimento), la sensibilità e la specificità del **cobas**® MRSA/SA Test per MRSA sono rispettivamente del 93,1% e del 97,5%.

Tabella 24 Valori ipotetici predittivi di risultati positivi e negativi per MRSA ottenuti dalla prevalenza di portatori nasali

Prevalenza (%)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	93,1%	97,5%	27,2%	99,9%
5	93,1%	97,5%	66,0%	99,6%
10	93,1%	97,5%	80,4%	99,2%
15	93,1%	97,5%	86,7%	98,8%
20	93,1%	97,5%	90,2%	98,3%
25	93,1%	97,5%	92,5%	97,7%
30	93,1%	97,5%	94,1%	97,1%

Nota: la sensibilità e la specificità sono state determinate confrontando i risultati del **cobas**® MRSA/SA Test con i risultati di una coltura diretta e di arricchimento combinate, ottenute da campioni di tamponi nasali prelevati da pazienti testati per la presenza di una colonizzazione da MRSA o SA.

NPV = valore predittivo negativo; PPV = valore predittivo positivo.

Valori ipotetici predittivi di risultati positivi e negativi del cobas® MRSA/SA Test per SA

La Tabella 25 mostra i valori ipotetici predittivi di risultati positivi e negativi (PPV e NPV), ottenuti da percentuali di portatori comprese tra l'1 e il 30%, per il **cobas® MRSA/SA Test per SA**. Rispetto alla coltura diretta e di arricchimento combinate (metodo di riferimento), la sensibilità e la specificità del **cobas® MRSA/SA Test per SA** sono rispettivamente del 93,9% e del 94,2%.

Tabella 25 Valori ipotetici predittivi di risultati positivi e negativi per SA ricavati dalla prevalenza di portatori nasali

Prevalenza (%)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	93,9%	94,2%	14,0%	99,9%
5	93,9%	94,2%	46,0%	99,7%
10	93,9%	94,2%	64,2%	99,3%
15	93,9%	94,2%	74,0%	98,9%
20	93,9%	94,2%	80,2%	98,4%
25	93,9%	94,2%	84,3%	97,9%
30	93,9%	94,2%	87,4%	97,3%

Nota: la sensibilità e la specificità sono state determinate confrontando i risultati del **cobas® MRSA/SA Test** con i risultati di una coltura diretta e di arricchimento combinate, ottenute da campioni di tamponi nasali prelevati da pazienti testati per la presenza di una colonizzazione da MRSA o SA.

NPV = valore predittivo negativo; PPV = valore predittivo positivo.

Informazioni supplementari

Caratteristiche specifiche del saggio

Tipo di campione	Tampone nasale
Quantità di campione richiesta	1,6 ml di terreno di trasporto MSwab nella provetta primaria; minimo 700 µl per l'esecuzione di un test cobas ® MRSA/SA.
Durata del test	Risultati disponibili entro 2,5 ore dal caricamento del campione sul sistema (1-22 campioni).
Sensibilità analitica	Da 175 a 750 CFU/tampone, a seconda dell'isolato.
Specificità	Assenza di reattività crociata con 147 organismi strettamente correlati o organismi comunemente presenti nei campioni nasali.
Inclusività	Complessivamente sono stati analizzati e identificati 314 isolati di MRSA e 91 isolati di SA provenienti da 16 Paesi, rappresentativi di almeno 7 tipi SCCmec, 10 tipi RE e 71 tipi spa.

Simboli

I seguenti simboli appaiono su tutte le confezioni di prodotti diagnostici PCR di Roche.

Tabella 26 Simboli utilizzati sulle etichette dei prodotti diagnostici PCR di Roche

 Age/DOB Età o data di nascita	 Dispositivo non idoneo ai test POC	 QS IU/PCR UI QS per reazione PCR; utilizzare le unità internazionali (UI) QS per la reazione PCR nel calcolo dei risultati.
 SW Software ausiliario	 Dispositivo non idoneo all'autodiagnosi	 SN Numero di serie
 Assigned Range [copies/mL] Intervallo assegnato (copie/ml)	 Distributore <i>(Nota: il paese e/o la regione applicabili potrebbero essere indicati sotto il simbolo.)</i>	 Site Laboratorio
 Assigned Range [IU/mL] Intervallo assegnato (UI/ml)	 Non riutilizzare	 Procedure Standard Procedura standard
 EC REP Mandatario nella Comunità Europea	 Femmina	 STERILE EO Sterilizzazione con ossido di etilene
 BARCODE Foglio di dati del barcode	 Solo per valutazione delle prestazioni IVD	  Conservare al buio Limiti di temperatura
 LOT Codice del batch	 GTIN Global Trade Item Number	 TDF File di definizione del test
 Rischio biologico	 Importatore	 ↑↑ Alto
 REF Numero di catalogo	 IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 Procedure UltraSensitive Procedura ultrasensibile
 CE Contrassegno di conformità CE: questo dispositivo è conforme ai requisiti pertinenti del marchio CE relativamente ai dispositivi medico-diagnostici <i>in vitro</i>	 LLR Limite inferiore dell'intervallo assegnato	 UDI Identificazione univoca del dispositivo
 Collect Date Data di raccolta	 Maschio	 ULR Limite superiore dell'intervallo assegnato
 Consultare le istruzioni per l'uso	 Fabbricante	 Urine Fill Line Riga di riempimento urina
 Σ Contenuto sufficiente per <n> test	 CONTROL - Controllo negativo	 Rx Only Solo USA: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo ai medici o su presentazione di prescrizione medica.
 CONTENT Contenuto del kit	 NON STERILE Non sterile	  Utilizzare entro la data Staccare qui
 CONTROL Controllo	 ? Nome del paziente	
 Data di produzione	 # Numero del paziente	
 Dispositivo idoneo ai test POC	 CONTROL + Controllo positivo	
 Dispositivo idoneo all'autodiagnosi	 QS copies / PCR Copie QS per reazione PCR; usare le copie QS per reazione PCR nel calcolo dei risultati.	

Assistenza tecnica

Per richiedere assistenza tecnica, contattare la nostra filiale locale:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Produttore e importatore

Tabella 27 Produttore e importatore



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Prodotto in USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Marchi e brevetti

Vedere <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.

Bibliografia

1. Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *J Infect Dis.* 2006;193(2):172-179. Epub 2005/12/20.
2. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Mol Med.* 2009;9(2):100-115. Epub 2009/03/12.
3. Bode LG, Kluytmans JA, Wertheim HF, et al. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med.* 2010;362(1):9-17. Epub 2010/01/08.
4. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis.* 2001;32 Suppl 2:S114-132. Epub 2001/04/26.
5. Reed SD, Friedman JY, Engemann JJ, et al. Costs and outcomes among hemodialysis-dependent patients with methicillin-resistant or methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005;26(2):175-183. Epub 2005/03/11.
6. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003;24(5):362-386. Epub 2003/06/06.
7. Huang SS, Yokoe DS, Hinrichsen VL, et al. Impact of routine intensive care unit surveillance cultures and resultant barrier precautions on hospital-wide methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2006;43(8):971-978. Epub 2006/09/20.
8. Peterson LR, Diekema DJ. To screen or not to screen for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2010;48(3):683-689. Epub 2010/01/15.
9. Cunningham R, Jenks P, Northwood J, Wallis M, Ferguson S, Hunt S. Effect on MRSA transmission of rapid PCR testing of patients admitted to critical care. *J Hosp Infect.* 2007;65(1):24-28. Epub 2006/12/06.
10. French GL. Methods for screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15 Suppl 7:10-16. Epub 2009/12/03.
11. Hardy K, Price C, Szczepura A, et al. Reduction in the rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in surgical wards by rapid screening for colonization: a prospective, cross-over study. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(4):333-339. Epub 2009/07/23.
12. Peterson LR, Liesenfeld O, Woods CW, et al. Multicenter evaluation of the LightCycler methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) advanced test as a rapid method for detection of MRSA in nasal surveillance swabs. *J Clin Microbiol.* 2010;48(5):1661-1666. Epub 2010/03/26.
13. Struelens MJ, Hawkey PM, French GL, Witte W, Tacconelli E. Laboratory tools and strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* screening, surveillance and typing: state of the art and unmet needs. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(2):112-119. Epub 2009/03/18.
14. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Revisione del documento

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc. Rev. 4.0 07/2023	<p>Aggiornamento della sezione Precauzioni e requisiti per l'uso per invitare l'utente a rivolgersi all'autorità locale competente.</p> <p>Modifica del titolo della sezione Correlazione tra i metodi in Prestazioni cliniche con i campioni clinici.</p> <p>Aggiunta di nuovi dati sulla performance clinica nella sezione Prestazioni cliniche con i campioni clinici.</p> <p>Aggiunta di un collegamento al report sintetico sulla sicurezza e sulle prestazioni.</p> <p>Aggiornamento della pagina dei simboli armonizzati.</p> <p>Aggiornamento dell'indirizzo di produttore e importatore.</p> <p>Aggiornamento della sezione Marchi e brevetti, collegamento incluso.</p> <p>Aggiunta della sezione Assistenza tecnica.</p> <p>Revisione per conformità ai requisiti IVDR.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>
Doc. Rev. 5.0 02/2024	<p>Aggiornamento delle informazioni sui pericoli dei Lysis Kit 1.</p> <p>Aggiornamento dei marchi cobas®.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>
Doc. Rev. 6.0 06/2024	<p>Aggiornamento delle informazioni sui pericoli dei kit di preparazione dei campioni.</p> <p>Rimozione del simbolo Rx Only dalla prima pagina.</p> <p>Aggiornamento della pagina dei simboli armonizzati.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>

Per prendere visione del report sintetico sulla sicurezza e sulle prestazioni, utilizzare il seguente collegamento:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>