

cobas[®] MRSA/SA Test

för användning på cobas[®] 4800-systemet

För *in vitro*-diagnostisk användning



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

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Avsedd användning

Sammanfattning och förklaring av testet/användningsprinciper

Bakgrund: Screening av MRSA och SA.....	4
Förklaring av testet.....	5
Testprinciper.....	5
Provpreparation.....	5
PCR-amplifiering och detektion med TaqMan®.....	5
Selektiv amplifiering.....	5

Material, reagens och prover

Material och reagens som tillhandahålls.....	6
Förvaring och hantering av reagens.....	8
Extramaterial som behövs.....	14
Tillval.....	14
Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer.....	15

Försiktighetsåtgärder och information om förvaring

Varningar och försiktighetsåtgärder.....	15
God laboratoriesed.....	16
Kontamination.....	16
Integritet.....	16
Avfallshantering.....	16
Spill och rengöring.....	17
Provtagning, transport och förvaring av prover.....	17
Provtagning.....	17
Förvaring och stabilitet för prover under transport.....	17

Bruksanvisning

Körning av testet.....	18
Arbetsflöde.....	18
Testprocedur.....	18

Resultat

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten.....	22
Positiv kontroll.....	22
Negativ kontroll.....	22
Internkontroll.....	22
Tolkning av resultat.....	22
Lista med resultatflaggor.....	24

Odling av kliniska prover	25
Testets begränsningar	25
Icke-klinisk egenskapsutvärdering	
Analytisk känslighet	27
Detektion av MRSA- och SA-genotyper	27
Geografisk inklusivitet	29
Precision	30
Kompetitiv inhibition	31
Analytisk specificitet	32
Interferens	35
Klinisk prestanda med kliniska prover.....	36
Resultat för MRSA-reproducerbarhet.....	38
Resultat för SA-reproducerbarhet.....	39
Klinisk prestanda.....	41
Resultat	41
Förväntade värden	44
Ytterligare information	
Viktiga analysegenskaper	46
Symboler.....	47
Teknisk support.....	48
Tillverkare och importör	48
Varumärken och patent.....	48
Copyright.....	48
Litteraturförteckning	49
Revidering av dokumentet	50

Avsedd användning

Testet **cobas**® MRSA/SA på **cobas**® 4800-systemet är en automatisk realtids-PCR-analys för snabb kvalitativ *in vitro*-detektion av DNA från meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA) och *Staphylococcus aureus* (SA) i nasala pinnprover avsett för förebyggande och kontroll av MRSA- och SA-infektioner i sjukvårdsmiljöer. Testet **cobas**® MRSA/SA är inte avsett att diagnostisera, styra eller övervaka behandling av MRSA- eller SA-infektioner, eller för att ge resultat om känslighet för meticillin. Ett negativt resultat utesluter inte nasal MRSA/SA-kolonisation. Konkomitanta kulturer krävs för att ta fram organismer för epidemiologisk typning eller för andra känslighetstest.

Sammanfattning och förklaring av testet/användningsprinciper

Bakgrund: Screening av MRSA och SA

SA är en opportunistisk patogen som förekommer som en kommensal organism på huden och i näs-öppningarna hos ungefär 30 % av den normala populationen. Den har potential att orsaka ett stort antal sjukdomar.¹ SA kan snabbt anpassa sig till det selektiva trycket från antibiotika, vilket har lett till uppkomst och spridning av MRSA-stammar. Resistens mot meticillin och mot annan β -laktamantibiotika är medierad av *mecA*-genprodukten, som är placerad på ett mobilt genetiskt element med namnet Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*). *mecA*-genen kodar för det förändrade penicillinbindande proteinet (PBP) 2a. Detta förhindrar normal bindning av β -laktamantibiotika till PBP i cellväggen, där den annars skulle ha stört syntesen av peptidoglykanlagret och dödat bakterieceller. Flera SCC*mec*-typer har kunnat urskiljas.² Flera MRSA-stammar har utvecklats och spridits över hela världen, och SCC*mec* har förvärvats av olika stammar av SA.²

SA- och MRSA-stammar är en stor källa till sjukvårdsrelaterade infektioner och de har orsakat bakterieutbrott i sjukvårdsmiljöer i hela världen i många år.^{3,4} SA- och MRSA-infektioner är ett enormt problem, både för hela sjukvårdssystemet och för enskilda sjukhus, och de orsakar betydande extrakostnader för sjukvården.⁵ I riktlinjer och rekommendationer⁶ samt i sjukhusens standardprocedurer rekommenderas aktiv screening och isolering och/eller dekolonisering av patienter som metoder för att kontrollera spridning av MRSA och SA.⁷

Vid utbrott kan ytterligare åtgärder vidtas, till exempel screening av inlagda patienter och sjukvårdspersonal och stängning av avdelningar. Trots att det finns allmänna riktlinjer kan standardprocedurerna för infektionskontroll variera stort mellan olika länder och mellan olika sjukhus.

Känsligheten för de metoder som används och tiden för att få fram resultat verkar vara de viktigaste faktorerna för att lyckas med screening och behandling.⁸ Med konventionella odlingsbaserade metoder krävs flera dagar för att få fram resultat och det går då inte att implementera snabba specifika åtgärder för infektionskontroll. Istället krävs att mer generella åtgärder för infektionskontroll används för alla patienter. Endast snabb teknik, till exempel molekylära metoder, möjliggör tidig detektion av MRSA och SA hos koloniserade patienter och efterföljande implementering av lämpliga skyddsåtgärder.⁹ Ett antal rapporter har påvisat värdet av snabba molekylära tester för snabb detektion av kolonisering med MRSA och SA.¹⁰⁻¹³

Testet **cobas**® MRSA/SA bearbetar nasala pinnprover som samlats in med Copan MSwab Collection, Transport and Preservation-kitet. Rören med de primära proverna laddas på **cobas**® 4800-systemet, och extraktion av nukleinsyra och förberedelse av PCR-reaktion sker i en automatisk process. Den efterföljande realtids-PCR-processen detekterar MRSA- och SA-specifik DNA-target i provet, om sådan förekommer. Testet kan köras tillsammans med testerna **cobas**® Cdiff och **cobas**® HSV 1 och 2 i en fleranalysering.

Alla tre testerna har samma process för automatisk provextraktion och samma PCR-profil för amplifiering och detektion.

Förklaring av testet

Testet **cobas**® MRSA/SA består av två grundläggande processer: (1) automatisk provpreparation för att extrahera nukleinsyror från de nasala proverna; (2) PCR-amplifiering av target DNA-sekvenser med hjälp av MRSA- och SA-specifika primers, och realtidsdetektion av klyvda MRSA- och SA-specifika oligo-nukleotidprober märkta med fluorokromer. En internkontroll som innehåller ej relaterad randomiserad DNA-sekvens adderas till alla prover innan den automatiska provpreparationen och amplifieras och detekteras samtidigt med varje prov för att övervaka hela processen.

Testprinciper

Provpreparation

Provpreparation för testet **cobas**® MRSA/SA automatiseras genom användning av instrumentet **cobas**® x 480. Organismer lyseras med kaotropiskt agens, proteinas K- och SDS-reagens. Frigjorda nukleinsyror, tillsammans med adderat internkontroll-DNA, binds av magnetiska glaspartiklar. De tvättas och elueras sedan till en liten volym buffert. Instrumentet tar sedan en portion av det eluerade materialet och förbereder PCR-reaktionen med ett aktiverat master mix-reagens.

PCR-amplifiering och detektion med TaqMan®

PCR-cyklingsstegen och detektion av target-signal utförs i analysinstrumentet **cobas**® z 480. Master mix-reagenset innehåller primerpar och prober för tre targets: SCCmec cassette Right Extremity junction-regionen som är specifik för MRSA, en genomisk target för alla SA (inklusive MRSA) samt internkontroll. Om target-nukleinsyrasekvenserna är närvarande kommer amplifiering med motsvarande primers att uppstå med hjälp av ett värmebeständigt DNA-polymeras som genererar PCR-produkter (amplicon). De här produkterna detekteras med hjälp av specifika TaqMan-prober som innehåller ett fluorescerande färgämne och en quencher. Normalt hämmar quenchern fluorescensen i färgämnet. Men om PCR-produkten är närvarande hybridiserar proben till produkten och klyvs via 5' till 3'-nukleasaktiviteten hos polymeraset. Den här reaktionen gör att fluorescensen kan sändas ut från färgämnet, och signalen registreras i realtid under varje PCR-cykel med analysinstrumentet **cobas**® z 480. Signalen tolkas av programvaran i **cobas**® 4800-systemet och rapporteras som ett slutligt resultat.

Selektiv amplifiering

Selektiv amplifiering av target-nukleinsyra från provet kan göras med testet **cobas**® MRSA/SA genom användning av AmpErase (uracil-N-glykosylas) och deoxiuridintrifosfat (dUTP). AmpErase-enzymet påvisar och katalyserar nedbrytning av DNA-strängar som innehåller deoxiuridin¹¹, men inte DNA som innehåller deoxitymidin. Deoxiuridin finns inte i naturligt förekommande DNA, men finns alltid i amplicon på grund av användningen av deoxiuridintrifosfat i stället för tymidintrifosfater som en av deoxinukleosidtrifosfaterna i Master mix-reagenset. Följaktligen innehåller endast amplicon deoxiuridin. Deoxiuridin gör kontaminerande amplicon känsligt för nedbrytning av AmpErase-enzym före DNA-amplifieringen. AmpErase-enzym, som ingår i Master mix-reagenset, katalyserar klyvning av DNA innehållande deoxiuridin vid deoxiuridin-resterna genom att öppna deoxiriboskedjan vid C1-positionen. Vid uppvärmning i det första termocykelsteget vid alkaliskt pH för Master mix, bryts amplicon-DNA-kedjan vid deoxiuridinets position vilket ger icke amplifierbart DNA. AmpErase-enzym är inaktivt vid temperaturer över 55 °C, dvs. genom alla termocykelsteg. Därför förstörs inte target amplicon. Testet **cobas**® MRSA/SA har visat sig inaktivera minst 10³ kopior av MRSA/SA-amplicon innehållande deoxiuridin per PCR.

Material, reagens och prover

Material och reagens som tillhandahålls

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Provpreparationskit för cobas® 4800-systemet) 240 test (P/N: 05235782190)	MGP (magnetiska glaspartiklar för cobas® 4800-systemet) Magnetiska glaspartiklar 93 % isopropanol**	10 × 4,5 ml	 FARA H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga. H319: Orsakar allvarlig ögonirritation. H336: Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad. P210: Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden. P233: Behållaren ska vara väl tillsluten. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P370 + P378: Vid brand: Släck med torr sand, torra kemikalier eller alkoholresistent skum. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (elueringsbuffert för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert 0,09 % natriumazid	10 × 18 ml	N/A

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Provpreparationskit för cobas® 4800-systemet) 960 test (P/N: 05235804190)	MGP (magnetiska glaspartiklar för cobas® 4800-systemet) Magnetiska glaspartiklar 93 % isopropanol**	10 × 13,5 ml	 FARA H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga. H319: Orsakar allvarlig ögonirritation. H336: Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad. P210: Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden. P233: Behållaren ska vara väl tillsluten. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P370 + P378: Vid brand: Släck med torr sand, torra kemikalier eller alkoholresistent skum. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (elueringsbuffert för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert 0,09 % natriumazid	10 × 18 ml	N/A

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 test (P/N: 06768253190)	LYS-1 (lyseringsbuffert 1 för cobas® 4800 -systemet) Natriumcitrat 5 % polidocanol** 42,6 % guanidintiocyanat** Ditiotreitol**	10 × 10 ml	 FARA H302: Skadligt vid förtäring. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H411: Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter. EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. EUH071: Frätande på luftvägarna. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar/ skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P391: Samla upp spill. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ditioerytritol

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 test (P/N: 06768253190)	PK (proteinase K för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert EDTA Kalciumklorid Kalciumacetat < 2,0 % proteinase K* Glycerin	10 × 0,9 ml	 FARA H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. H334: Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P280: Använd skyddshandskar. P284: Använd andningsskydd. P304 + P340: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P342 + P311: Vid besvär i luftvägarna: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/ läkare. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serin
	SDS (SDS-reagens för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert Natriumdodecylsulfat 0,09 % natriumazid	10 × 3 ml	N/A

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 test (P/N: 06768270190)	LYS-1 (lyseringsbuffert 1 för cobas® 4800 -systemet) Natriumcitrat 5 % polidocanol** 42,6 % guanidintiocyanat** Ditiotreitol**	10 × 36 ml	 FARA H302: Skadligt vid förtäring. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H411: Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter. EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. EUH071: Frätande på luftvägarna. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar/ skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P391: Samla upp spill. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ditioerytritol

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 test (P/N: 06768270190)	PK (proteinase K för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert EDTA Kalciumklorid Kalciumacetat < 2,0 % proteinase K** Glycerin	20 × 1,2 ml	 FARA H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. H334: Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P280: Använd skyddshandskar. P284: Använd andningsskydd. P304 + P340: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P342 + P311: Vid besvär i luftvägarna: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/ läkare. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serin
	SDS (SDS-reagens för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert Natriumdodecylsulfat 0,09 % natriumazid	10 × 9 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 test (P/N: 05235863190)	WB (tvättbuffert för cobas® 4800-systemet) Natriumcitrat-dihydrat 0,05 % N-metylisotiazolon-HCl	10 × 55 ml	 VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 26172-54-3 2-metyl-2H-isotiazol-3-on hydroklorid

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 test (P/N: 05235871190)	WB (tvättbuffert för cobas® 4800 -systemet) Natriumcitrat-dihydrat 0,05 % N-metylisotiazolon-HCl	10 × 200 ml	 VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 26172-54-3 2-metyl-2H-isotiazol-3-on hydroklorid
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 körningar (P/N: 06768318190)	IC-1 (cobas® 4800 IC-1) Trisbuffert EDTA < 0,01 % poly rA RNA (syntetiskt) 0,05 % natriumazid < 0,01 % icke smittbärande, syntetiskt internkontroll-DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein	20 × 0,5 ml	N/A
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit 80 test (P/N: 06768113190)	MRSA/SA MMX (cobas® MRSA/SA-mastermix) Tricinbuffert EDTA Kaliumacetat Kaliumhydroxid Tween 20 Glycerol 0,09 % natriumazid < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % uppströms- och nedströms-MRSA-, SA- och internkontroll-primers < 0,01 % fluorokrommärkta MRSA- och SA-prober och märkta internkontrollprober < 0,01 % oligonukleotid-aptamer < 0,01 % Z05 DNA-polymeras (mikrobiellt) < 0,02 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) (mikrobiellt)	10 × 0,3 ml	N/A

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit 240 test (P/N: 06768172190)	MRSA/SA MMX (cobas® MRSA/SA-mastermix) Tricinbuffert EDTA Kaliumacetat Kaliumhydroxid Tween 20 Glycerol 0,09 % natriumazid < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % uppströms- och nedströms-MRSA-, SA- och internkontroll-primers < 0,01 % fluorokrommärkta MRSA- och SA- prober och märkta internkontrollprober < 0,01 % oligonukleotid-aptamer < 0,01 % Z05 DNA-polymeras (mikrobiellt) < 0,02 % AmpErase-enzym (uracil-N- glykosylas) (mikrobiellt)	10 × 0,7 ml	N/A
	MRSA/SA (+) C (positiv kontroll för cobas® MRSA/SA) Trisbuffert EDTA < 0,01 % poly rA RNA (syntetiskt) 0,05 % natriumazid < 0,01 % icke smittsamt plasmid-DNA (mikrobiellt) innehållande MRSA-sekvens < 0,01 % icke smittsamt plasmid-DNA (mikrobiellt) innehållande SA-sekvens	10 × 0,5 ml	N/A
	(-) C (negativ kontroll för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert EDTA < 0,01 % poly rA RNA (syntetiskt) 0,05 % natriumazid	10 × 0,5 ml	N/A
cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit 10 körningar (P/N: 06768288190)	Cofactor-1 (cobas® 4800 Cofactor-1) Manganacetat Magnesiumacetat 0,09 % natriumazid	10 × 1,7 ml	N/A

* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

Förvaring och hantering av reagens

Reagens	Förvarings-temperatur	Förvaringstid
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Provpreparationskit för cobas® 4800-systemet)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Lyseringskit 1 för cobas® 4800-systemet)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Internkontrollkit 1 för cobas® 4800-systemet)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit (cobas® 4800 MRSA/SA-amplifierings-/detektionskit)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit (cobas® 4800 MRSA/SA-kit med kontroller och kofaktor)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Tvättbuffertkit för cobas® 4800-systemet)	15–25 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.

Frys inte reagens.

Utgångsdatum för reagens baseras på koordinerad universell tid (UTC). Den lokala tiden för reagensens utgångsdatum kan ändras med plus eller minus 12 timmar beroende på hur den lokala tidszonen förhåller sig till UTC.

Extramaterial som behövs

Material	P/N
CORE-spetsar, 1000 µl, rack med 96	04639642001
50 ml-reagensbehållare	05232732001
200 ml-reagensbehållare	05232759001
Extraktionsplatta (djupbrunn) till cobas® 4800-systemet	05232716001
AD-platta (mikrotiter) 0,3 ml och skyddsfilm till cobas® 4800-systemet	05232724001
Skyddsfilmapplicator	04900383001
Rack med 32 positioner	04639529001
Påse för fast avfall	05530873001 (liten) eller 04691989001 (stor)
Hamilton STAR avfallsnedkast	Roche 04639669001
MSwab Collection, Transport and Preservation System	07007248190 eller COPAN P/N 404C.R eller 404C
Engångshandskar, puderfria	Alla puderfria engångshandskar är godkända.
Vortexmixer (ett rör)	Alla typer av vortexmixer är godkända.

Kontakta din Roche-representant om du vill ha mer information om material som säljs separat.

Tillval

Material	P/N
Skyddsmatta eller skydd till djupbrunnspatta	Roche 04789288001 eller Hamilton 6474-01
Korkar, vit färg (för återförslutning av primärprover efter körning)	07033893001 eller COPAN 2U008N100.R eller 2U008N100

Kontakta din Roche-representant om du vill ha mer information om tillval.

Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer

Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer
cobas® 4800-systemet Instrumentet cobas® x 480 Analysinstrumentet cobas® z 480 Kontrollenhet
Programmet cobas® MRSA/SA AP version 1.0.0 eller högre till cobas® 4800-systemet
Applikationsprogrammet (Core) version 2.2.0 eller högre till cobas® 4800-systemet

Kontakta din Roche-representant om du vill ha mer information om material som säljs separat.

Försiktighetsåtgärder och information om förvaring

Varningar och försiktighetsåtgärder

Liksom för alla testmetoder är det mycket viktigt att använda god laboratorieled för att denna analys ska fungera korrekt. Med hänsyn till testets höga analytiska känslighet är noggrannhet nödvändig så att reagens-, prov- och amplifieringsblandningarna hålls rena.

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Undvik mikrobiell kontamination och DNA-kontamination av reagens och prover. SA bärs av ~30 % av populationen och kan finnas i näsöppningarna eller på huden. Var extra noggrann vid hantering av prover och reagens för att undvika potentiell SA-kontamination från användaren.
- Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran hos närmaste Roche-kontor.
- LYS-1-reagens innehåller guanidintiocyanat. Guanidintiocyanat får inte komma i direkt kontakt med natriumhypoklorit (blekmedel) eller några andra högreaktiva reagens som syror eller baser. Dessa blandningar kan bilda en skadlig gas.
- MGP innehåller isopropanol och är mycket brandfarligt. Håll borta från öppna lågor och miljöer som kan bilda gnistor.
- EB, MRSA/SA MMX, SDS, Cofactor-1, (-)C, MRSA/SA (+)C och IC-1 innehåller natriumazid.
- Ytterligare varningar, försiktighetsåtgärder och procedurer för att minska kontaminationsrisken för instrumentet **cobas®** x 480 eller analysinstrumentet **cobas®** z 480 finns i användarassistansen till **cobas®** 4800-systemet. Om du misstänker att kontamination förekommer ska du utföra rengöring och åtgärder för veckovis underhåll enligt beskrivningen i användarassistansen till **cobas®** 4800-systemet.
- Informera berörd lokal myndighet och tillverkaren om eventuella allvariga incidenter som inträffar när du använder den här analysen.

Obs! Utförliga instruktioner finns i "Provtagning, transport och förvaring av prover".

God laboratoriesed

- Pipettera inte med munnen.
- Ät, drick eller rök inte i laboratoriet.
- Tvätta händerna noga efter hantering av prover och kitets reagens.
- Använd engångshandskar, laboratorierock och ögonskydd vid hantering av reagens. Undvik att dessa material kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med stora mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå. Om spill förekommer, späd med vatten innan spillet torkas upp.
- Rengör och desinficera noga alla arbetsytor i laboratoriet med en nyberedd lösning bestående av 0,5 % natriumhypoklorit i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspädd 1:10). Torka därefter av ytan med 70-procentig etanol.

Kontamination

- Handskar ska användas och ska bytas mellan hantering av prover och **cobas®** MRSA/SA-reagens för att undvika kontamination. Undvik att förorena handskarna när du hanterar prover och kontroller. Använd laboratoriehandskar, laboratorierock och ögonskydd när du hanterar prover och kitets reagens.
- Undvik mikrobiell kontamination och ribonukleaskontamination av reagens.
- Falskt positiva resultat kan förekomma om carryover mellan prover inte förhindras vid provhantering.
- Prover ska behandlas som smittbärande i enlighet med säkra laboratorierutiner som exempelvis de rutiner som beskrivs i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁴ och i CLSI-dokumentet M29-A4.¹⁵

Integritet

- Använd inte kit efter utgångsdatum.
- Blanda inte reagens.
- Använd inte engångsartiklar efter utgångsdatum.
- Använd inte reagens eller behållare som är synligt skadade eller visar tecken på läckage.
- Alla engångsartiklar är avsedda att användas en gång. Återanvänd dem inte.
- All utrustning ska hanteras enligt tillverkarens instruktioner.

Avfallshantering

- Reagens för **cobas®** 4800-systemet och reagens som är specifika för testet **cobas®** MRSA/SA innehåller natriumazid (se "**Varningar och försiktighetsåtgärder**"). Natriumazid kan reagera med bly- eller kopparrör och bilda mycket explosiva metallazider. Förhindra aziduppbyggnad genom att spola med mycket kallt vatten om lösningar som innehåller natriumazid hålls ut i avloppet.
- Kassera oanvända reagens och avfall enligt gällande nationella, regionala och lokala föreskrifter.

Obs! Information om hantering av vätskeavfall finns i användarassistenten till cobas® 4800-systemet.

Spill och rengöring

- LYS-1-reagens innehåller guanidintiocyanat. Utspilld vätska som innehåller guanidintiocyanat torkas upp med lämplig laboratedetergent och vatten. Om den utspillda vätskan innehåller potentiellt smittbärande agenser ska det aktuella området FÖRST rengöras med laboratedetergent och vatten, och därefter med 0,5 % natriumhypoklorit.
- Om spill förekommer på instrumentet **cobas®** 4800 ska anvisningarna i användarassistansen till **cobas®** 4800-systemet följas vid rengöringen.
- Använd inte natriumhypokloritlösning (blekmedel) vid rengöring av instrumentet **cobas®** x 480 eller analysinstrumentet **cobas®** z 480. Rengör instrumentet **cobas®** x 480 eller analysinstrumentet **cobas®** z 480 enligt anvisningarna i användarassistansen till **cobas®** 4800-systemet.

Provtagning, transport och förvaring av prover

Obs! Hantera alla prover som potentiellt smittbärande.

Provtagning

Nasala pinnprover som samlats in med MSwab Collection, Transport and Preservation System har validerats för användning med testet **cobas®** MRSA/SA. Proverna ska samlas in enligt proceduren som beskrivs i avsnittet "Provtagningsprocedur" och enligt standardrutinerna på din arbetsplats.

Förvaring och stabilitet för prover under transport

Nasala pinnprover som samlats in med MSwab Collection, Transport and Preservation System är hållbara för transport och förvaring i 4 dagar i 2–30 °C, eller i 9 dagar i 2–8 °C eller i 30 dagar om de är frusna i –20 °C före testning på **cobas®** 4800-systemet (detta har påvisats genom att testa prover efter förvaring i 15 ± 1 °C och 31 ± 1 °C i 4 dagar, följt av 2–8 °C i 5 dagar, följt av -20 ± 5 °C i 30 dagar).

Vid transport av MRSA/SA-prover ska gällande bestämmelser för transport av etiologiska agens följas.

Bruksanvisning

Körning av testet

Arbetsflöde

Bild 1: Arbetsflöde för cobas® MRSA/SA

1	Starta systemet.
2	Utför underhåll av instrumentet.
3	Ta ut prover och reagens från förvaringen.
4	Starta körningen: Ladda carriers med prover.
5	Med LIS: bekräfta arbetsbeställning Utan LIS: skapa arbetsbeställning
6	Ladda förbrukningsartiklarna (djupbrunnsplatta, mikrotiterplatta, spetsrack) och reagens
7	Starta provpreparationen
8	Mata ut och försluta mikrotiterplattan
9	Ta bort prover, använd reagens och djupbrunnsplattan.
10	Ladda mikrotiterplattan i analysinstrumentet
11	Granska resultat
12	Med LIS: skicka resultaten till LIS
13	Utföra utmatning från analysinstrumentet

Testprocedur

Provtagningsprocedur

- Använd bomullspinnen som medföljer MSwab-provtagningskitet. Använd pinnen torr eller fuktad med två droppar steril fysiologisk saltlösning.
- För försiktigt in pinnen i patientens näsborre (spetsen på pinnen ska föras in upp till 2,5 cm från kanten på näsöppningen).
- Rotera pinnen över slemhinnan i näsborren 3 gånger.
- Upprepa steg 2 och 3 i den andra näsborren med samma pinne.
- Sätt tillbaka pinnen i transportröret. Tryck pinnskaftet mot kanten av röret så att det bryts av vid det markerade stället.
- Sätt på korken ordentligt och säkerställ att den övre delen av pinnskaftet är placerad i centrum av korken.
- Märk provet och transportera det till testlaboratoriet enligt standardrutinerna på din arbetsplats (se avsnittet **"Förvaring och stabilitet för prover under transport"**). I avsnittet **"Arbetsflöde"** finns information om prover.

Alla reagens utom MRSA/SA MMX och Cofactor-1 ska ha rumstemperatur innan de laddas i instrumentet **cobas®** x 480. Reagensen MRSA/SA MMX och Cofactor-1 kan tas direkt från förvaring i 2–8 °C eftersom de hinner ekvilibreras till rumstemperatur i instrumentet **cobas®** x 480 innan de används i processen.

Obs! Mer information om användning finns i användarassistenten till cobas® 4800-systemet.

Körningsstorlek

cobas® 4800-systemet är utformat för att stödja fleranalyiskörningar mellan testerna **cobas®** MRSA/SA, **cobas®** Cdiff och **cobas®** HSV 1- och 2. Det generiska provpreparationskitet för systemet **cobas®** 4800, det generiska lyseringskitet 1 för **cobas®** 4800-systemet och det generiska tvättbuffertkitet för **cobas®** 4800-systemet finns i två kitstorlekar, som var och en räcker till 10 körningar med upp till antingen 24 eller 96 prover (inklusive kontrollerna och proverna för alla analyser som ska köras). **cobas®** 4800 MRSA/SA-amplifierings-/detektionskitet finns i två storlekar, som var och en räcker för att testa upp till antingen 80 eller 240 prover (inklusive de MRSA/SA-kontroller och -prover som ska köras). Flera flaskor med **cobas®** 4800 MRSA/SA master mix-reagens kan användas i en körning om det behövs, så länge de har samma kitstorlek. Det generiska internkontrollkitet 1 för **cobas®** 4800-systemet och **cobas®** 4800-kitet med MRSA/SA-kontroller och kofaktor finns i en kitstorlek som räcker till 20 respektive 10 körningar och som kan användas med alla körningskonfigurationer. För varje körning som innehåller MRSA/SA-prover måste en positiv kontroll för **cobas®** 4800 MRSA/SA och en negativ kontroll för **cobas®** 4800-systemet köras (se "Kvalitetskontroll"). Maximalt 94 prover och två kontroller är tillåtna i en och samma testkörning.

Obs! Ett generiskt reagens för 96 test kan användas för en körning som innehåller 1–22 prover, fast det innebär då att man inte använder reagensen optimalt. Dock kan inte olika storlekar på tvättbuffertkit (WB) för cobas® 4800-systemet, provpreparationskit för cobas® 4800-systemet och lyseringskit 1 för cobas® 4800-systemet blandas. Om till exempel en reagensflaska med WB för 96 test skannas när körningen startar måste reagens med storlek för 96 test från de andra två kiten också användas.

Obs! Ett cobas® 4800 MRSA/SA MMX för 24 test kan användas för en körning som innehåller 1–6 MRSA/SA-prover, fast det innebär då att man inte använder reagensen optimalt. Information om hur du ändrar kitstorleken finns i användarassistenten till cobas® 4800-systemet.

Arbetsflöde

Testet **cobas®** MRSA/SA körs med det fullständiga arbetsflödet i **cobas®** 4800-programmet. Det består av provpreparation i instrumentet **cobas®** x 480 följt av amplifiering/detektion i analysinstrumentet **cobas®** z 480. Körningen kan vara enbart MRSA/SA, eller fleranalyiskörningar med testerna **cobas®** Cdiff och/eller **cobas®** HSV 1 och 2. Mer information finns i användarassistenten till **cobas®** 4800-systemet.

Prover

Obs! Testet cobas® MRSA/SA har validerats för användning med MSwab Collection, Transport and Preservation System. Använd inte andra produkter för pinnprovtagning eller andra medietyper.

Obs! Ett korrekt taget nasalt pinnprov ska ha en enda FLOQ-pinne och skaftet ska sitta fast i korken. Prover som kommer in utan pinne eller med mer än en pinne har inte tagits enligt anvisningarna och ska inte testas.

Obs! Bearbeta inte nasala pinnprover som verkar blodiga eller har en mörkbrun färg.

- Obs!** Proverna ska finnas i behållare för primärprover med korrekt streckkod för bearbetning i instrumentet cobas® x 480. Läs om korrekta förfaranden för streckkodsmärkning i användarassistenten till cobas® 4800-systemet, där det även finns en lista över godkända streckkoder för cobas® 4800-systemet.
- Obs!** För att undvika korskontamination rekommenderar vi att primärrören bearbetas på cobas® 4800-systemet innan övrig bearbetning och testning.
- Obs!** För att undvika korskontamination från bearbetade prover ska extra korkar i en annan färg (vit, se "Tillval") användas för MSwab-provbehållaren för att försluta proverna efter bearbetning.
- Obs!** Nasala pinnprover som samlats in i MSwab-medium innehåller tillräcklig volym för att analyseras två gånger på cobas® 4800-systemet, och kan också användas för eventuella nödvändiga odlingar (se "Odling av kliniska prover"), förutsatt att inget spill har inträffat under provhanteringen innan testet. Anvisningar om inokulering på odlingar finns på bipacksedeln till MSwab Collection, Transport and Preservation System. Minsta provvolym i behållaren med primärt MSwab-prov som behövs för att genomföra en cobas® MRSA/SA-körning är 700 µl.

Så här utförs testet cobas® MRSA/SA

Obs! Det går att utföra fleranalyskörningar mellan testerna cobas® MRSA/SA och cobas® Cdiff och/eller cobas® HSV 1 och 2. Mer information finns i användarassistenten till cobas® 4800-systemet.

1. Utför systemstart och underhåll genom att följa anvisningarna i användarassistenten till cobas® 4800-systemet.
2. Ta fram alla reagens och förbrukningsartiklar som behövs. Reagensen måste ha rumstemperatur när körningen startas, med undantag av reagensen cobas® MRSA/SA MMX och Cofactor-1.

Obs! Alla reagens och reagensbehållare har streckkod och är avsedda för engångsbruk. Programmet cobas® 4800 registrerar användningen av reagens och reagensbehållare och matar ut tidigare använda reagens eller reagensbehållare.

3. Kontrollera att utseendet på de nasala pinnproverna som samlats in i MSwab-medium uppfyller kraven i avsnittet "Prover". Kontrollera att alla korkar sitter fast ordentligt. Vortexa provet i minst 10 sekunder. Ta bort korken på röret (toppen på pinnen ska sitta fast i korken) och snurra pinnen mot rörets innervägg för att få bort överflödigt vätska. Kassera korken med pinnen precis innan provet laddas på cobas® 4800-systemet. Se till att pinnen tas ut tillsammans med korken. En pinne som lämnas kvar i provröret kommer att störa testet cobas® MRSA/SA.
4. Starta en ny körning och definiera arbetsbeställningen för körningen. En arbetsbeställning kan skapas på tre sätt:
 - Genom att använda provredigeraren innan provracket laddas i instrumentet cobas® x 480 (knappen "Editor" till höger i huvudmenyn). Arbetsbeställningar kan sparas, redigeras och matas in igen om det behövs.
 - Genom att följa programguiden för den nya körningen och ladda proverna på instrumentet cobas® x 480 vid uppmaning. Provernas streckkoder skannas automatiskt och de begärda resultaten för varje prov måste definieras.
 - Genom att använda LIS-systemet på din arbetsplats.

Mer information finns i användarassistenten till cobas® 4800-systemet. När du väljer de begärda resultaten ska du antingen markera bara "MRSA", både "MRSA" och "SA" eller bara "SA" beroende

på vilka tester som ska utföras. Om du till exempel väljer bara "SA" kommer inte MRSA-resultat att vara tillgängliga.

5. Ladda proverna och definiera/välj arbetsbeställning eller använd LIS. Alternativet "Unload sample carriers after transferring to deep well plate" är valt som standard. Det gör att användaren kan hämta de återstående proverna så fort som möjligt efter att de har delats upp för bearbetning av instrumentet **cobas® x 480**. Provbehållarna ska återförslutas med nya korkar (se "**Tillval**") om de ska förvaras.
6. Följ programguiden och ladda förbrukningsartiklarna. Ladda inte och ta inte heller bort enskilda spetsar i ett delvis använt spetsrack, eftersom programmet registrerar antalet kvarvarande spetsar. Om det inte finns tillräckligt många spetsar för att körningen ska kunna genomföras kommer programmet att varna användaren om detta.
7. Ladda provpreparationsreagensen i de streckkodsmärkta reagensbehållarna. Reagensbehållarna finns i två storlekar: 200 ml och 50 ml. Följ programguiden och välj rätt storlek på reagensbehållarna. Reagensbehållarnas streckkoder måste vara vända åt höger i racket. Använd "scan-scan-pour-place"-metoden för att ladda provpreparationsreagensen:

- Skanna reagensflaskans streckkod.
- Skanna reagensbehållarens streckkod.
- Håll reagenset i behållaren.
- Placera den fyllda reagensbehållaren på avsedd plats i reagensracket.

Obs! cobas® 4800-systemet har en intern klocka som övervakar den tid som reagensen finns i instrumentet. Efter att WB har skannats har man 1 timme på sig att utföra laddningen och klicka på "Start"-knappen. Ett tidur visas som räknar ned tiden på fliken "Workplace". Systemet tillåter inte att körningen startar om tiden som reagensen finns i instrumentet har gått ut.

Obs! Säkerställ noggrann överföring av MGP genom att vortexa eller kraftigt skaka MGP-flaskan omedelbart före dispensering i reagensbehållaren.

8. Ladda amplifierings-/detektionsreagensen (MRSA/SA MMX och Cofactor-1), proteinas K (PK) och kontrollerna [MRSA/SA (+) C, IC och (-) C] direkt i reagensracken. Handskar måste användas efter hantering av positiva kontroller för att undvika kontamination.

Obs! Programguiden beräknar optimalt antal och optimal storlek på de behållare med cobas® MRSA/SA MMX-reagens som ska användas. Detta visas i kolumnen "Kit size" i fönstret som visar laddning av MMX och kofaktor. Om du vill använda en annan storlek på behållaren med cobas® MRSA/SA MMX-reagens klickar du på knappen "Change kit size".

9. Starta provpreparationen genom att klicka på "Start run".
10. Efter att provpreparationskörningen slutförts blir knapparna "Sample Preparation results" och "Unload" tillgängliga. Välj knappen "Sample Preparation results" om du vill granska resultaten och välj sedan "Unload" för att mata ut plattracket. Alternativt kan du välja "Unload" för att mata ut plattracket utan att granska resultaten. Se användarassistansen till **cobas® 4800-systemet**.
11. Följ anvisningarna i användarassistansen till **cobas® 4800-systemet** för att försluta mikrotiterplattan, transportera plattan till analysinstrumentet **cobas® z 480** och starta amplifierings- och detektionskörningen.

Obs! cobas® 4800-systemet har en intern klocka som övervakar tiden efter tillsats av de preparerade proverna till aktiverat master mix. Amplifiering och detektion ska startas så snart som möjligt men senast 90 minuter efter att körningen i instrumentet cobas® x 480 avslutats. Ett tidur visas som räknar ned tiden på fliken "Workplace". Systemet avbryter körningen om tiden har gått ut.

12. När amplifierings- och detektionskörningen är klar ska mikrotiterplattan matas ut från analysinstrumentet **cobas®** z 480.
13. Följ anvisningarna i användarassistansen till **cobas®** 4800-systemet för att granska och godkänna resultaten.

Resultat

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten

Ett set positiva och negativa kontroller för testet **cobas®** MRSA/SA ingår i varje körning. För varje körning måste giltiga resultat erhållas både för den positiva och negativa kontrollen för att programmet **cobas®** 4800 ska visa de rapporterbara resultaten från testet **cobas®** MRSA/SA från körningen.

Positiv kontroll

Kontrollen MRSA (+) innehåller icke smittbärande DNA-plasmider av både MRSA och *Staphylococcus aureus*. Kontrollen MRSA/SA (+) övervakar extraktionen av nukleinsyra, amplifiering och detektionsstegen i en given körning av testet. Resultatet för kontrollen MRSA/SA (+) måste vara "Valid". Kontakta din Roche-representant och begär teknisk hjälp om resultaten för kontrollen MRSA/SA (+) är genomgående ogiltiga.

Negativ kontroll

Resultatet för kontrollen (–) måste vara "Valid". Kontakta din Roche-representant och begär teknisk hjälp om resultaten för kontrollen (–) är genomgående ogiltiga.

Internkontroll

Internkontrollen är en lambdafag-molekyl som innehåller randomiserade sekvenser och targets för internkontrollspecifika primers och prober. Internkontrollen tillsätts i alla prover och i de positiva och negativa kontrollerna under provpreparationen på instrumentet **cobas®** x 480. Internkontrollen övervakar nukleinsyraextraktionen, amplifiering och detektionsstegen för ett givet prov. Internkontrollen krävs också för validering av körningskontrollerna.

Tolkning av resultat

Obs! All analys- och körningsvalidering fastställs av programmet **cobas® 4800.**

Obs! En giltig körning kan innehålla både giltiga och ogiltiga provresultat.

Om körningen är giltig tolkas provresultaten enligt Tabell 1.

Tabell 1 Tolkning av resultat av testet cobas® MRSA/SA

Testet cobas® MRSA/SA	Resultatrapport och tolkning
Begärt resultat "MRSA/SA"	
POS MRSA, POS SA	MRSA positivt, SA positivt Provet är positivt för förekomst av både MRSA och SA.
NEG MRSA, NEG SA	MRSA negativt*, SA negativt* Varken MRSA eller SA, om förekommande, kunde detekteras.
NEG MRSA, POS SA	MRSA negativt*, SA positivt MRSA, om förekommande, kunde inte detekteras. Provet är positivt för förekomst av SA.
Invalid MRSA, POS SA	MRSA ogiltigt, SA positivt MRSA-resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att ett giltigt MRSA-resultat erhålls. Provet är positivt för förekomst av SA.
Invalid MRSA, NEG SA	MRSA ogiltigt, SA negativt* MRSA-resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga MRSA-resultat erhålls. SA, om förekommande, kunde inte detekteras.
NEG MRSA, Invalid SA	MRSA negativt*, SA ogiltigt MRSA, om förekommande, kunde inte detekteras. SA-resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att ett giltigt SA-resultat erhålls.
Invalid MRSA, Invalid SA	MRSA ogiltigt, SA ogiltigt Både MRSA- och SA-resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga MRSA- och SA-resultat erhålls.
Failed	Inget resultat för prov Se användarassistanzen till cobas® 4800-systemet för anvisningar om granskning av körningsflaggor och rekommenderade åtgärder. Om koagel detekteras och tillräcklig volym återstår ska det ursprungliga provet vortexas i minst 10 sekunder och testas om så att giltiga MRSA- och SA-resultat erhålls.
Begärt resultat "MRSA"	
POS MRSA	MRSA positivt Provet är positivt för förekomst av MRSA.
NEG MRSA	MRSA negativt* MRSA, om förekommande, kunde inte detekteras.
Invalid MRSA	MRSA ogiltigt MRSA-resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att ett giltigt MRSA-resultat erhålls.
Failed	Inget resultat för prov Se användarassistanzen till cobas® 4800-systemet för anvisningar om granskning av körningsflaggor och rekommenderade åtgärder. Om koagel detekteras och tillräcklig volym återstår ska det ursprungliga provet vortexas i minst 10 sekunder och testas om så att giltiga MRSA-resultat erhålls.

Tabell 1 Tolkning av resultat av testet cobas® MRSA/SA (fortsättning)

Testet cobas® MRSA/SA	Resultatrapport och tolkning
Begärt resultat "SA"	
POS SA	SA positivt Provet är positivt för förekomst av SA.
NEG SA	SA negativt* SA, om förekommande, kunde inte detekteras.
Invalid SA	SA ogiltigt SA-resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att ett giltigt SA-resultat erhålls.
Failed	Inget resultat för prov Se användarassistansten till cobas® 4800-systemet för anvisningar om granskning av körningsflaggor och rekommenderade åtgärder. Om koagel detekteras och tillräcklig volym återstår ska det ursprungliga provet vortexas i minst 10 sekunder och testas om så att giltiga SA-resultat erhålls.

* Ett negativt resultat utesluter inte förekomst av MRSA och/eller SA eftersom resultaten är beroende av rätt provtagning, avsaknad av hämmare och tillräckligt med DNA.

Ogiltiga resultat kan erhållas om provet innehåller hämmande ämnen som förhindrar extraktion av nukleinsyratarget och/eller amplifiering och detektion. I avsnittet "**Testets begränsningar**" finns information om kända interfererande ämnen.

Misslyckade resultat kan erhållas om provet innehåller koagel som interfererar med provpreparationsproceduren på instrumentet cobas® 4800.

Lista med resultatflaggor

I följande tabell visas flaggor som är relevanta för tolkning av resultat.

Tabell 2 Lista med flaggor för testet cobas® MRSA/SA

Testet cobas® MRSA/SA	Testet cobas® MRSA/SA	Resultatrapport och tolkning
R20	Den positiva kontrollen är ogiltig.	En extern kontroll är ogiltig. 1. Upprepa hela körningen med nya reagens. 2. Kontakta Roche kundsupport om problemet kvarstår.
R21	Den negativa kontrollen är ogiltig.	En extern kontroll är ogiltig. 1. Upprepa hela körningen med nya reagens. 2. Kontakta Roche kundsupport om problemet kvarstår.
X3	Fel: Koagel detekterades. Provet bearbetades inte.	Säkerställ att proverna har hanterats enligt anvisningarna för arbetsflödet. 1. Kontrollera att det inte finns koagel i provet. 2. Kör om provet.
X4	Fel: Ett pipetteringsfel uppstod. Provet bearbetades inte.	Otillräcklig provvolym eller mekaniskt fel under pipetteringen är den troligaste orsaken. 1. Säkerställ att provvolymen är tillräcklig. 2. Kontrollera att spetsutmatningsplattan är korrekt placerad. 3. Kör om provet.

Odling av kliniska prover

För att kunna utföra antimikrobiella känslighetstester eller epidemiologisk typning kan kliniska prover behöva odlas från det insamlade mediumet. Anvisningar om bearbetning av odlingar finns på bipacksedeln till COPAN MSwab Collection, Transport and Preservation System.

Obs! Minsta provvolym i behållaren med primärt MSwab-prov som behövs för att genomföra ett enskilt cobas® MRSA/SA-test är 700 µl. För att undvika korskontamination rekommenderar vi att primärrören bearbetas på cobas® 4800-systemet innan portioner för bakterieodling tas ut. Om portioner av provet måste tas ut för bakterieodling innan testet cobas® MRSA/SA utförs ska du säkerställa att minst 700 µl av provet finns kvar och att du är ytterst försiktig när du hanterar provet. Testning av prover med mindre volym än 700 µl kan resultera i falskt negativa resultat.

Testets begränsningar

1. Testet **cobas®** MRSA/SA har endast validerats för användning med nasala pinnprover som samlats in med MSwab Collection, Transport and Preservation System.
2. Resultatens tillförlitlighet förutsätter rätt provtagning, transport, förvaring och behandling av prover. Följ procedurerna i bruksanvisningen (kallas även bipacksedel), bipacksedlarna för MSwab Collection, Transport and Preservation System och i användarassistenten till **cobas®** 4800-systemet.
3. Detektion av MRSA och SA är beroende av antalet organismer i provet och kan påverkas av provtagningsmetoderna, patientfaktorer (t.ex. koloniseringsstadiet, historiken för sjukhusvistelser, vilken antibiotikabehandling som har använts, närheten till MRSA-bäraren) och/eller MRSA/SA-stammarna.
4. Falskt negativa eller ogiltiga resultat kan uppstå på grund av interferens från olika ämnen. Internkontrollen ingår i testet **cobas®** MRSA/SA och bidrar till att prover som innehåller ämnen som kan störa nukleinsyra-isoleringen och PCR-amplifieringen kan identifieras. Kända interferenser inkluderar, men är inte begränsat till följande:
 - Prover som innehåller mer än 75 % (volymprocent) blod per pinne kan ge falskt negativa resultat. Testa inte prover som är mörkröda eller bruna.
 - Prover som innehåller mer än 10 % (viktprocent) mucin per pinne kan ge falskt negativa resultat.
 - Prover som innehåller mer än 15 % (viktprocent) Rhinaris® näsgel per pinne kan ge falskt negativa resultat.
 - Prover som innehåller mer än 25 % (volymprocent) Releev per pinne kan ge falskt negativa resultat.
5. Ett positivt resultat indikerar förekomst av MRSA DNA och inte nödvändigtvis av livsdugliga organismer. Därför innebär ett positivt resultat inte nödvändigtvis att behandling för bakterieutrotning har misslyckats. Ett negativt resultat följt av ett tidigare positivt testresultat kan indikera en lyckad behandling för bakterieutrotning eller kan uppstå på grund av återkommande kolonisering.
6. Testet **cobas®** MRSA/SA detekterar inte mecA-genen direkt, och inte heller det penicillinbindande proteinet (PBP 2a) som kodas av den här genen. Ett falskt positivt MRSA-resultat kan uppstå om en "tom kassett-variant" av *Staphylococcus aureus* förekommer.
7. Mutationer eller polymorfismer i primer- eller prob-bindande regioner kan påverka detektionen av nya eller okända varianter, vilket resulterar i ett falskt negativt resultat med analysen **cobas®** MRSA/SA.
8. Det prediktiva värdet för en analys beror på sjukdomens prevalens i en viss population.

9. Tillsats av AmpErase-enzym i **cobas**® 4800 MRSA/SA-master mix möjliggör selektiv amplifiering av target-DNA. Kontamination av reagens och av amplifieringsblandningarna kan dock endast undvikas om god laboratoriesed tillämpas och om de procedurer som beskrivs i den här bruksanvisningen följs noga.
10. Endast personal med erfarenhet av PCR-teknik ska använda produkten och **cobas**® 4800-systemet.
11. Endast instrumentet **cobas**® x 480 och analysinstrumentet **cobas**® z 480 har validerats för att användas tillsammans med denna produkt. Inga andra provpreparationsinstrument eller PCR-system kan användas med denna produkt.
12. På grund av inneboende skillnader mellan metoder rekommenderas användaren, innan en metod byts ut mot en annan, att genomföra metodkorrelationsanalyser i laboratoriet för att bestämma skillnaderna mellan metoderna. Etthundra procent överensstämmelse mellan resultaten ska inte förväntas på grund av de tidigare nämnda skillnaderna mellan metoderna.
13. Korskontamination kan orsaka falskt positiva resultat. Procenttalet för korskontamination mellan prover för testet **cobas**® MRSA/SA på **cobas**® 4800-systemet har fastställts till 0 % i en icke-klinisk studie. Korskontamination mellan körningar har inte observerats.

Icke-klinisk egenskapsutvärdering

Analytisk känslighet

Den analytiska känsligheten (detektionsgräns eller LoD) för testet **cobas®** MRSA/SA fastställdes genom analys av kvantifierade MRSA- och SA-odlingsisolat i flera nivåer med minst 61 replikat per nivå. Testproverna preparerades genom att spika odlingen i FLOQ-pinnen och sedan inkubera pinnen i en simulerad matris för nasala pinnprover. Den simulerade matrisen som består av mucin och humana celler imiterar effekten av den kliniska bakgrunden för nasala pinnprover i testet **cobas®** MRSA/SA. Alla panelprover testades med testet **cobas®** MRSA/SA med tre loter av reagenser för testet **cobas®** MRSA/SA. LoD för det här testet definieras som den koncentration av target som kan detekteras som positiv i $\geq 95\%$ av de testade replikaten, baserat på de resultat som genererades av reagensloten med den sämsta prestandan.

Två MRSA-isolat och ett SA-isolat testades i studien av analytisk känslighet. LoD för testet **cobas®** MRSA/SA med de här isolaten visas i Tabell 3.

Tabell 3 Detektionsgräns (LoD) för testet **cobas®** MRSA/SA

Organism	Ursprung	Ursprungs-id	RE-typ	SCCmec-typ	spa-typ	PFGE	MIC-värde	Testade nivåer	LoD (CFU/pinne)
MRSA	NARSA	NRS384	2	IVa	t008	USA300-0114	32	9	650
MRSA	ATCC	43300	2	II	t007	Sac-15	N/A	8	700
SA	NARSA	NRS164	N/A	N/A	t084	N/A	N/A	8	700

N/A = Ej tillämpligt

Detektion av MRSA- och SA-genotyper

Detektionsgränsen för testet **cobas®** MRSA/SA på 35 MRSA-isolat och fem SA-isolat som representerar vanliga genotyper (inklusive RE-typerna 1, 2, 3, 4, 6, MRSA SCCmec-typerna I, II, III, IV, V, VI och VIII och MRSA PFGE-typerna (Pulse-Field Gel Electrophoresis) USA 100 till 1000) bekräftades genom att testa 40 replikat per nivå vid olika nivåer. Den genetiska diversiteten för MRSA/SA i den här samlingen täcks in av olika SCCmec-typer, MREJ-typer och spa-typer (som återfinns i arten *Staphylococcus aureus* baserat på dess fylogenetiska struktur) samt stammar som är representativa för olika PFGE-typer. Spädningarna och testproverna preparerades på ett liknande sätt som i studien av detektionsgräns (LoD) som beskrivits tidigare. Den lägsta nivån som hade minst 95 % observerad träffsannolikhet sammanfattas i Tabell 4 och Tabell 5. Resultaten har visat att testet **cobas®** MRSA/SA detekterar alla 35 MRSA- och fem SA-stammar korrekt med en detektionsgräns (LoD) från 175 till 750 CFU/pinne. De detekterade stammarna representerar minst åtta SCCmec-typer (I, II, III, IV, V, VI, VIII och nya), 10 MREJ-typer, 21 spa-typer, nio PFGE-typer och cefoxitin MIC-värden från 8 till mer än 32.

Tabell 4 Detektionsgräns (LoD) för testet cobas® MRSA/SA på MRSA-genotyper

Nr på MRSA-isolat	RE-typ	SCCmec-typ	spa-typ	MIC-värde	PFGE-typ	LoD (CFU/pinne)
1	11	ny	t002	> 32	Okänd	485
2	6	II	t242	> 32	Okänd	720
3	9/11	ny	t024	16	Okänd	175
4	14	Okänd	Okänd	Okänd	Okänd	700
5	25	Okänd	t003	> 32	Okänd	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	Iberisk	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	ny	t476	8	Okänd	350
31	1	I	t149	> 32	Okänd	175
32	3	VIII	Okänd	16	Okänd	700
33	4	IV	Okänd	12	Okänd	350
34	2	III	t030	> 32	Okänd	700
35	25	VI	Okänd	Okänd	Okänd	175

Tabell 5 Detektionsgräns (LoD) för testet **cobas®** MRSA/SA på SA-genotyper

Nr på SA-isolat	<i>spa</i> -typ	LoD (CFU/pinne)
1	t238	175
2	t018	175
3	t008	175
4	t002	175
5	t088	175

Geografisk inklusivitet

Förutom de 37 MRSA- och sex SA-isolaten som ingår i studierna av analytisk känslighet och inklusivitet för genotyper som visas ovan testades 281 MRSA-isolat och 85 SA-isolat som samlats in på olika platser vid koncentrationer som låg nära detektionsgränsen för testet **cobas®** MRSA/SA. Insamlingen av 281 MRSA-isolat från 16 länder innehöll MRSA-isolat från olika SCCmec-typer (I, II, III, IV, IVa, V, VI, VII och nya), 71 *spa*-typer och cefoxitin MIC-värden från 6 till mer än 256. Insamlingen av 85 SA-isolat från geografiskt olika platser i USA innehöll SA-isolat från 75 olika *spa*-typer. Testet **cobas®** MRSA/SA detekterade alla 85 SA-isolaten. Av de 281 MRSA-isolaten detekterades 277. De fyra MRSA-isolat som inte detekterades av testet **cobas®** MRSA/SA sekvenserades, och resultaten pekade på att målregionerna innehöll sekvenser som inte kunde identifieras av de primers och prober som ingår i testet **cobas®** MRSA/SA. Ett av de fyra isolaten var en mec ALGA251-stam (även känd som mec C). De geografiska platserna för MRSA-insamlingen visas i Tabell 6.

Tabell 6 Geografisk inklusivitet för testet **cobas®** MRSA/SA

Geografiskt ursprung	Totalt antal MRSA-isolat	Detekterade av testet cobas® MRSA/SA
UK	58	58
Tyskland	51	51
Danmark	37	36
Frankrike	33	31
USA	20	20
Spanien	20	20
Schweiz	18	18
Japan	15	15
Sverige	7	7
Australien	6	5
Nederländerna	5	5
Italien	4	4
Belgien	3	3
Skottland	2	2
Irland	1	1
Norge	1	1
Totalt	281	277

Precision

Den företagsinterna precisionen fastställdes med två MRSA- och ett SA-isolat utspädda i en simulerad matris för nasala pinnprover på nivåer under detektionsgränsen (LoD), nära LoD och över LoD för testet **cobas®** MRSA/SA. En negativ nivå framställd av endast den simulerade matrisen för nasala pinnprover testades också. I studien användes tre unika loter av reagens för testet **cobas®** MRSA/SA och tre instrument i totalt 36 körningar under 12 dagar. En beskrivning av precisionsproverna och träffsannolikheten för studien visas i Tabell 7. En analys av variansen för Ct-värdena från tester som utfördes med positiva panelprover över LoD (se Tabell 8 och Tabell 9) gav totalt sett CV (%)-intervall från 0,8 % till 1,3 % för MRSA Ct och 1,2 % för SA Ct.

Tabell 7 Träffsannolikhetsanalys enligt studien av företagsintern precision

Panelprov	Isolat	Koncentration av target	Ant. testade	Antal positiva	Träffsannolikhet	95 % KI	
						Nedre	Övre
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	Ingen	Negativa	72	0	0,0 %	0,0 %	5,0 %

Tabell 8 Analys av varianskomponenter för precisionspanelprover över LoD

Stam	Medel Ct	Varianskomponenter/bidrag till den totala variansen i procent					Totalt
		Lot	Kitstorlek	Instrument	Körning	Sluppmässigt	
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 %

Tabell 9 Analys av standardavvikelser och variationskoefficienter (%) för precisionspanelprover

Stam	Medel Ct	SD-komponenter/CV (%)					Totalt
		Lot	Kitstorlek	Instrument	Körning	Sluppmässigt	
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 %

Kompetitiv inhibition

Paneler konstruerades med två MRSA-isolat som target vid 3 x detektionsnivån (LoD) för testet **cobas®** MRSA/SA, och konkurrerande isolat av *Staphylococcus aureus* och meticillinresistenta *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) vid ökande koncentrationer. Den ökande koncentrationen av SA eller MRSE påverkade inte detektionen av MRSA/SA-targets, vilket deras relativt stabila Ct-värde visar (Tabell 10).

Tabell 10 Studie av kompetitiv inhibition för MRSA med hjälp av SA (Ct-värden)

Konkurrerande organism (koncentration)	Target		
	MRSA 10364	MRSA 8065	SA 10851
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (1 x target)	38,2	38,8	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (100 x target)	38,1	39,1	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (10000 x target)	38,4	38,8	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (1 x target)	38,1	39,0	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (100 x target)	38,5	39,3	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (10000 x target)	37,4	39,0	N/A
<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

Analytisk specificitet

För att bedöma den analytiska specificiteten för testet **cobas**® MRSA/SA testades följande paneler: 1) 92 bakterier, svampar och virus som kan hittas i nasala pinnprover (Tabell 11); 2) humana celler (Tabell 11); 3) 43 koagulasnegativa *Staphylococcus* (CoNS) och meticillinresistenta koagulasnegativa *Staphylococcus* (MR-CoNS) (Tabell 12); 4) 10 borderline meticillinresistenta SA (BORSA)-isolat och två SA-isolat för endast MRSA-specificitet (Tabell 13).

Alla bakterier och humana celler spikades till 1×10^6 enheter*/ml eller högre utom *Chlamydia pneumoniae*, och alla virus spikades till den högsta tillåtna koncentrationen av de respektive stammarna (1×10^5 enheter*/ml utom adenovirus 1 och influensa A/H1N1). Testerna utfördes med antingen enbart organismerna eller med två MRSA- och ett SA-isolat närvarande vid 3 x detektionsgränsen (LoD) för testet **cobas**® MRSA/SA. Resultaten indikerade att inga av de här organismerna interfererade med detektion av avsedda MRSA- eller SA-targets. Inga av dem producerade falskt positiva resultat när det inte förekom någon avsedd MRSA/SA-target.

*Alla bakterier kvantifierades som kolonibildande enheter (CFU) utom *Chlamydia pneumoniae* som kvantifierades som DNA-kopior. Humant metapneumovirus kvantifierades i virala partiklar. Adenovirus 1, 7 och 40, humant enterovirus, HSV1, influensa A/H3N2A/Hong Kong/8/68, mässlingvirus, påssjukevirus, parainfluensa 1, parainfluensa 2 och parainfluensa 3, coronavirus 229E, coronavirus OC43, cytomegalovirus och rhinovirus kvantifierades alla i plackbildande enheter (PFU). RSV A och RSV B kvantifierades i TCID₅₀-enheter. Influenza A/H1N1 och influensa B kvantifierades i EID₅₀-enheter. EBV kvantifierades i kopior.

Tabell 11 Mikroorganismer som normalt finns i näsfloran och som testats för analytisk specificitet

<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> (KPC-producerande) ATCC # 700603	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (KPC-producerande) ATCC # BAA1900	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Lactobacillus crispatus</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>Cytomegalovirus</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis avirulent</i>	<i>Epstein-Barr-virus</i>
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>HSV 1</i>
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Mycoplasma salivarium</i>	<i>Humant adenovirus typ 1*</i>
<i>Corynebacterium flavescentis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Humant adenovirus typ 7A</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Parvimonas micra</i>	<i>Humant enterovirus 71</i>
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Pasteurella aerogenes</i>	<i>Humant metapneumovirus</i>
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Planococcus maritimus</i>	<i>Influenza A/H1N1</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>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>Mässlingvirus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Påssjuevirus</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 typ 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>HCT-15-celler (humant genomiskt DNA)</i>

* *Chlamydia pneumoniae* testades vid $1,0 \times 10^5$ kopior/ml och adenovirus typ 1 vid $1,0 \times 10^4$ PFU/ml.

Tabell 12 Närbesläktade CoNS- och MR-CoNS-organismer som testats för specificitet

<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC27676 (meticillinresistent)	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
<i>Staphylococcus auricularis</i> (meticillinresistent)	<i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>
<i>Staphylococcus caprae</i> (meticillinresistent)	<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 (meticillinresistent)	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC43252	<i>Staphylococcus simulans</i> ATCC27848 (meticillinresistent)
<i>Staphylococcus delphini</i>	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC25615	<i>Staphylococcus simulans</i> ATCC11631
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC14990 (meticillinresistent)	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC35982	<i>Staphylococcus warneri</i> ATCC27836 (meticillinresistent)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35547 (meticillinresistent)	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC27844	<i>Staphylococcus warneri</i> ATCC27839 (meticillinresistent)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35983 (meticillinresistent)	<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC27845	<i>Staphylococcus warneri</i> RMSCC1224
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35984 (meticillinresistent)	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i> ATCC35663
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC51624 (meticillinresistent)	<i>Staphylococcus kloosii</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i> ATCC29971
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC51625 (meticillinresistent)	<i>Staphylococcus lentus</i>	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC700583	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	-

Tabell 13 SA- och BORSA-isolat som testats för MRSA-specificitet

<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)

Interferens

25 vanliga näs- eller halsmediciner samt helblod och mucin testades för möjliga interferenseffekter med testet **cobas®** MRSA/SA. Alla ämnen testades vid nivåer som ligger över vad som rimligen kan förväntas vid insamling av nasala prover med pinne. Mängden interfererande ämnen uttrycks som procentandelen av den maximala mängd som en pinne kan absorbera eller bära. Två MRSA-isolat och ett SA-isolat spikades till 3 x detektionsgränsen (LoD) för testet **cobas®** MRSA/SA och användes som targets i testerna. Ingen interferens observerades upp till 100 % av pinnens kapacitet för exogena ämnen, utom för Relenza® (ingen interferens upp till 6,25 % av pinnens kapacitet), Rhinaris® Nasal Gel (ingen interferens upp till 15 % av pinnens kapacitet) och Releev (ingen interferens upp till 25 % av pinnens kapacitet). Observera att Relenza® endast testades upp till 6,25 % av pinnens kapacitet eftersom detta redan utgör hela mängden för en normal användning av medicinen enligt föreskrivningen. För helblod observerades ingen interferens upp till 75 % av pinnens kapacitet, och för mucin observerades ingen interferens upp till 10 % av pinnens kapacitet. De här resultaten sammanfattas i Tabell 14.

Tabell 14 Resultat från tester av interfererande ämnen

Ämne	Resultat
Helblod	Ingen interferens upp till 75 % av pinnens kapacitet
Mucin	Ingen interferens upp till 10 % av pinnens kapacitet
Afrin nässpray	Ingen interferens
Beconase nässpray	Ingen interferens
Bepanthen® nässalva	Ingen interferens
Chloraseptic Max halstabletter	Ingen interferens
Nässpray med flutikasonpropionat (50 mcg)	Ingen interferens
FluMist® (Afluria, vaccin mot influensavirus)	Ingen interferens
Nässpray med flunisolid USP, 0,025 %	Ingen interferens
Mupirocinsalva	Ingen interferens
Dristan™ nässpray	Ingen interferens
Luffeel™	Ingen interferens
Nässpray med triamcinolonacetonid	Ingen interferens
NasalCrom nässpray	Ingen interferens
Nasonex nässpray	Ingen interferens
Neo-Synephrine	Ingen interferens
Otrivine nässpray	Ingen interferens
Relenza®	Ingen interferens upp till 6,25 % av pinnens kapacitet*
Budesonidsuspension för inhalering, 0,25 mg/2 ml	Ingen interferens
Azelastin HCl nässpray	Ingen interferens
Equate salin-nässpray	Ingen interferens
Rhinaris® näsgel	Ingen interferens upp till 15 % av pinnens kapacitet
Ögonlösning med tobramycin och dexametason	Ingen interferens
Releev (för munherpes)	Ingen interferens upp till 25 % av pinnens kapacitet
Zicam näsgel	Ingen interferens
QVAR (40 mcg) aerosol för inhalering	Ingen interferens
Nostrilla	Ingen interferens

* Den här koncentrationen representerar hela mängden Relenza® som skulle tillämpas vid ett enda användningstillfälle enligt föreskrivningen.

Klinisk prestanda med kliniska prover

Prestandan hos testet **cobas**® MRSA/SA jämfördes med ett högklassigt FDA-godkänt och CE-märkt jämförande NAT-test, där kombinerad direktodling/anrikning av bakterier användes som referensmetod. Två nasala pinnprover samlades in från varje patient som deltog i studien. Provet för testet **cobas**® MRSA/SA samlades in med MSwab Collection, Transport and Preservation System, och provet för det jämförande testet samlades in med Liquid Stuart-pinnar. MSwab-provet användes för att inokulera en platta vardera med selektivt och differentiellt kromogent medium för MRSA och för SA (direktodling), samt ett rör som innehåller Trypticase Soy Broth (TSB) med 6,5 % NaCl för anrikning över natten (anrikningskultur). Anrikningskulturen fördelades sedan i ett tunt lager på kromogent medium. Förmodade SA-positiva kolonier på plattor med kromogent medium bekräftades med hjälp av ett latexagglutinationstest (Staphraurex®, Remel Microbiology Products, Thermo Scientific, Inc.). Förmodade MRSA-kolonier bekräftades igen med ett cefoxitin-diskdiffusionstest.

Totalt 383 personer deltog från två olika platser inom EU. Fyra personer exkluderades på grund av ofullständiga resultat i ett av testen. Det fanns 27 MRSA-positiva och 144 SA-positiva prover från kombinerad direktodling/anrikning (förekomst: MRSA 7,1 %, SA 38,0 %). Prestandan hos testet **cobas**® MRSA/SA och det jämförande NAT-testet mot direktodling visas i Tabell 15.

Tabell 15 Testet **cobas**® MRSA/SA och jämförande nukleinsyratest (NAT) mot direktodling

MRSA		Direktodling	
cobas® MRSA/SA	Positiva	15	18
	Negativa	1	345
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Känslighet	94 %	70 %	100 %
Specifitet	95 %	92 %	97 %

SA		Direktodling	
cobas® MRSA/SA	Positiva	121	29
	Negativa	5	224
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Känslighet	96 %	91 %	99 %
Specifitet	89 %	84 %	92 %

MRSA		Direktodling	
Jämförande NAT-test	Positiva	14	16
	Negativa	2	347
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Känslighet	88 %	62 %	98 %
Specifitet	96 %	93 %	97 %

SA		Direktodling	
Jämförande NAT-test	Positiva	122	31
	Negativa	4	222
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Känslighet	97 %	92 %	99 %
Specifitet	88 %	83 %	92 %

Prestandan hos testet **cobas**® MRSA/SA och det jämförande NAT-testet mot direktodling/anrikning visas i Tabell 16. I den här analysen betraktas ett resultat som positivt om ett resultat för antingen direktodling eller anrikning är positivt. Ett negativt resultat kan endast erhållas om resultaten från både direktodling och anrikning är negativa.

Tabell 16 Testet **cobas®** MRSA/SA och jämförande nukleinsyratext (NAT) mot direktodling/anrikning

MRSA		Direktodling/anrikning	
		Positiva	Negativa
cobas® MRSA/SA	Positiva	25	8
	Negativa	2	344
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Känslighet	93 %	76 %	99 %
Specificitet	98 %	96 %	99 %

SA		Direktodling/anrikning	
		Positiva	Negativa
cobas® MRSA/SA	Positiva	137	13
	Negativa	7	222
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Känslighet	95 %	90 %	98 %
Specificitet	94 %	91 %	97 %

MRSA		Direktodling/anrikning	
		Positiva	Negativa
Jämförande NAT-test	Positiva	24	6
	Negativa	3	346
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Känslighet	89 %	71 %	98 %
Specificitet	98 %	96 %	99 %
NPV	99 %	98 %	100 %
PPV	80 %	61 %	92 %

SA		Direktodling/anrikning	
		Positiva	Negativa
Jämförande NAT-test	Positiva	138	15
	Negativa	6	220
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Känslighet	96 %	91 %	98 %
Specificitet	94 %	90 %	96 %
NPV	97 %	94 %	99 %
PPV	90 %	84 %	94 %

Slutligen visas prestandan för testet **cobas®** MRSA/SA i direkt jämförelse med ett högklassigt FDA-godkänt och CE-märkt jämförande NAT-test i Tabell 17.

Tabell 17 Testet **cobas®** MRSA/SA mot jämförande nukleinsyratext (NAT)

MRSA		Jämförande NAT-test	
		Positiva	Negativa
cobas® MRSA/SA	Positiva	28	5
	Negativa	2	344
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Positiv överensstämmelse	93 %	78 %	99 %
Negativ överensstämmelse	99 %	97 %	100 %

SA		Jämförande NAT-test	
		Positiva	Negativa
cobas® MRSA/SA	Positiva	144	6
	Negativa	9	220
	Uppskattning	95 % KI LL	95 % KI UL
Positiv överensstämmelse	94 %	89 %	97 %
Negativ överensstämmelse	97 %	94 %	99 %

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten för testet **cobas®** MRSA/SA på **cobas®** 4800-systemet fastställdes i en undersökning på flera platser med hjälp av artificiella kliniska prover som utvärderades genom lot, testplats/instrument, användare, dag och körning.

Testpanelerna för MRSA/SA-reproducerbarhet bereddes genom seedning av MRSA-stammarna NRS384 (MRSA-384) och ATCC 43300 (MRSA-43300) eller SA-stam RMSCC 10851 i artificiell provmatris (simulerade kliniska nasala MSwab-prover med mucin och humana epitelceller) vid en av tre koncentrationer (Under LoD, 1 × LoD och 3 × LoD); ett MRSA/SA-negativt panelprov inkluderades som kontrollpanelprov. Totalt testades 10 prover per testpanel med 3 replikat per panelprov inkluderade i varje körning. Panelerna testades på 3 platser av 2 användare per plats, med 1 körning per användare per dag i 5 dagar per lot, över 2 loter för totalt 1 800 tester (180 tester/panelprov eller 90 tester/panelprov/lot). Totalt utfördes 60 körningar varav alla var giltiga körningar. Inga tester var misslyckade/ogiltiga.

Resultat för MRSA-reproducerbarhet

Tabell 18 sammanfattar resultaten för MRSA-reproducerbarhet för Ct-värden och procentuell överensstämmelse (tvåsidigt 95 % exakt KI) efter plats och panelprov. Överensstämmelsen för positiv procentandel för de MRSA-positiva panelproverna "Under LoD MRSA-384" och "Under LoD MRSA-43300" var 85,6% (95 % KI: 79,6 % till 90,3 %) respektive 87,2 % (95 % KI: 81,4 % till 91,7 %); överensstämmelsen för positiv procentandel för alla övriga MRSA-positiva panelprover var 100,0 % (95 % KI: 98,0 % till 100,0 %). Den totala standardavvikelsen (SD) och total CV (%) för Ct-värden för alla MRSA-positiva panelprover var ≤ 0,51 % respektive ≤ 1,4 %.

Tabell 18 Sammanfattning av resultat för MRSA-reproducerbarhet – Ct-värden och procentuell överensstämmelse efter plats och panelprov

Panelprov	Giltiga test-resultat (n)	Ct			Procentuell överensstämmelse efter plats (n/N) ^a			Total överensstämmelse	
		Medelvärde	SD	CV (%)	1	2	3	Procent (n/N)	(95 % KI) ^b
Negativa	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 %)
Under 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 %)
Under 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 För det negativa panelprovet, procentuell överensstämmelse = (antal negativa resultat ÷ totalt antal giltiga resultat) × 100;
för positiva panelprover, procentuell överensstämmelse = (antal positiva resultat ÷ totalt antal giltiga resultat) × 100.

^b 95 % KI = tvåsidigt 95-procentigt exakt binomialt konfidensintervall.

KI = konfidensintervall; Ct = cykeltröskelvärde; CV = variationskoefficient; LoD = detektionsgräns; MRSA = meticillinresistent *Staphylococcus aureus*; MRSA-384 = meticillinresistent *Staphylococcus aureus*-stam NRS384; MRSA-43300 = meticillinresistent *Staphylococcus aureus*-stam ATCC 43300; N/A = inte tillämpligt; SA = *Staphylococcus aureus*.

Tabell 19 visar SD och CV (%) för Ct-värden för MRSA-positiva panelprover totalt samt tillämplbart för lot, plats/instrument, användare, dag och inom körning.

Tabell 19 Medelvärde, standardavvikelse och variationskoefficienter (%) för Ct-värden från giltiga resultat för positiva panelprover – MRSA

MRSA			Standardavvikelse och variationskoefficient i procent											
			Lot		Plats/inst.		Användare		Dag		Inom körning		Totalt	
Panelprov	N	Medel-Ct	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
Under 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 %
Under 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 = cykeltröskelvärde; CV = variationskoefficient; inst. = instrument; LoD = detektionsgräns; MRSA = meticillinresistent *Staphylococcus aureus*; MRSA-384 = meticillinresistent *Staphylococcus aureus*-stam NRS384; MRSA-43300 = meticillinresistent *Staphylococcus aureus*-stam ATCC 43300; SD = standardavvikelse.

Resultat för SA-reproducerbarhet

Tabell 20 sammanfattar resultaten för SA-reproducerbarhet för Ct-värden och procentuell överensstämmelse (tvåsidigt 95 % exakt KI) efter plats och panelprov. Överensstämmelsen för positiv procentandel för de SA-positiva panelproverna "Under LoD SA", "1 × LoD SA" och "3 × LoD SA" var 50,0 % (95 % KI: 42,5 % till 57,5 %), 99,4 % (95 % KI: 96,9 % till 100,0 %) respektive 100,0 % (95 % KI: 98,0 % till 100,0 %). Den totala standardavvikelsen (SD) och total CV (%) för Ct-värden för alla SA-positiva panelprover var ≤ 0,49 % respektive ≤ 1,3 %. Överensstämmelsen för negativ procentandel för de MRSA/SA-negativa panelproverna var 100,0 % (95 % KI: 98,0 % till 100,0 %).

Tabell 20 Sammanfattning av resultat för SA-reproducerbarhet – Ct-värden och procentuell överensstämmelse efter plats och panelprov

Panelprov	Giltiga test-resultat (n)	Ct			Procentuell överensstämmelse efter plats (n/N) ^a			Total överensstämmelse	
		Medelvärde	SD	CV (%)	1	2	3	Procent (n/N)	(95 % KI) ^b
Negativa	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 %)
Under 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 För det negativa panelprovet, procentuell överensstämmelse = (antal negativa resultat ÷ totalt antal giltiga resultat) × 100;
för positiva panelprover, procentuell överensstämmelse = (antal positiva resultat ÷ totalt antal giltiga resultat) × 100.

^b 95 % KI = tvåsidigt 95-procentigt exakt binomialt konfidensintervall.

KI = konfidensintervall; Ct = cykeltröskelvärde; CV = variationskoefficient; LoD = detektionsgräns; N/A = inte tillämpligt;
SA = *Staphylococcus aureus*.

Tabell 21 visar SD och CV (%) för Ct-värden för SA-positiva panelprover totalt samt tillämbart för lot, plats/instrument, användare, dag och inom körning.

Tabell 21 Medelvärde, standardavvikelse och variationskoefficienter (%) för Ct-värden från giltiga resultat för positiva panelprover – SA

SA			Standardavvikelse och variationskoefficient i procent											
			Lot		Plats/inst.		Användare		Dag		Inom körning		Totalt	
Panelprov	N	Medel-Ct	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
Under 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 = cykeltröskelvärde; CV = variationskoefficient; LoD = detektionsgräns; SA = *Staphylococcus aureus*; SD = standardavvikelse.

Klinisk prestanda

Den kliniska prestandan för testet **cobas**® MRSA/SA fastställdes i en IRB-godkänd prospektiv undersökning på flera platser genom att jämföra resultaten med kromogen direktodling samt kromogen direktodling kombinerat med anrikningsodling, med hjälp av nasala pinnprover från lämpliga personer (män och kvinnor).

Proverna samlades in vid sex olika geografiska platser i USA. Ett eller två pinnprover samlades in från varje person; ett pinnprov samlades in för "standard-of-care"-testning (om tillämpligt) och ett pinnprov, en MSwab (Copan Flock Technologies Srl., Brescia, Italy), samlades in för testet **cobas**® MRSA/SA och för direktodling och anrikningsodling.

Testet **cobas**® MRSA/SA utfördes på tre platser, och direktodling och anrikningsodling utfördes i ett referenslaboratorium specialiserat på odling och molekylär detektion av meticillinresistent MRSA och SA. En alikvot om 100 µl MSwab-prov från varje person överfördes direkt till en platta vardera med selektivt och differentiellt kromogent medium för MRSA och SA (direktodling) samt till ett rör innehållande tryptisk sojabuljong (TSB) med 6,5 % NaCl (anrikningsodling). Misstänkta isolat och positiva anrikade buljongodlingar subodlades i 5 % fårblodsagar och isolat identifierades som SA med hjälp av gramfärgning och ett latexagglutinationstest. Förmodade MRSA-isolat bekräftades med ett cefoxitin-diskdiffusionstest (Kirby-Bauer) för meticillinresistens.

Ett MRSA/SA-odlingspositivt prov definierades som ett prov positivt för MRSA/SA genom antingen direktodling eller anrikningsodling. Ett MRSA/SA-odlingsnegativt prov definierades som ett prov negativt för MRSA/SA med både direktodling och anrikningsodling.

Avvikelseanalys utfördes på alla prover med avvikande resultat, och en slumpmässigt vald andel prover med överensstämmande resultat inkluderades som kontroller, mellan testet **cobas**® MRSA/SA och kombinerad direktodling och anrikningsodling, med hjälp av ett annat FDA-godkänt nukleinsyra-amplifieringstest (NAAT) och en icke-selektiv direktodling och anrikningsodling. En alikvot om 100 µl resterande (överblivet) MSwab-prov överfördes till en chokladagarplatta (icke-selektiv direktodling) och en annan alikvot om 100 µl överfördes till TSB utan NaCl (icke-selektiv anrikningsodling). Isolat som hämtades från icke-selektiv direktodling och anrikningsodling karakteriserades enligt beskrivningen; dessutom bekräftades identifieringen av misstänkta atypiska isolat med hjälp av en laboratorieutvecklad PCR-analys för *femA*- och *mecA*-gener enligt referenslaboratoriets fastställda metoder.

Resultat

Prover samlades in från 2 528 personer med 2 504 (99,1 %) utvärderingsbara resultat från 1 372 män (54,8 %) och 1 132 (45,2 %) kvinnor. Majoriteten av personerna var > 50 år gamla (67,2 %) med ett åldersintervall från 18 till 101 år (medianålder = 57). Det fanns totalt 160 MRSA-positiva och 660 SA-positiva prover.

Prestanda för testet cobas® MRSA/SA jämfört med kombinerad direktodling och anrikningsodling (referensmetod)

Prestandan för testet **cobas®** MRSA/SA jämfört med kombinerad direktodling och anrikningsodling från 2 500 utvärderingsbara resultat för MRSA samt från 2 501 utvärderingsbara resultat för SA visas i Tabell 22.

Sensitiviteten och specificiteten för MRSA jämfört med kombinerad direktodling och anrikningsodling var 93,1 % (149/160) respektive 97,5 % (2 281/2 340) och prevalensen, PPV och NPV var 6,4 %, 71,6 % respektive 99,5 %.

Sensitiviteten och specificiteten för SA jämfört med kombinerad direktodling och anrikningsodling var 93,9 % (620/660) respektive 94,2 % (1 734/1 841) och prevalensen, PPV och NPV var 26,4 %, 85,3 % respektive 97,7 %.

Tabell 22 Jämförelse av resultat från testet **cobas®** MRSA/SA med direktodling och anrikningsodling (referensmetod)

		Direktodling och anrikningsodling (referensmetod)					
		MRSA			SA		
		Positiva	Negativa	Totalt	Positiva	Negativa	Totalt
Testet cobas® MRSA/SA	Positiva	149	59	208	620	107	727
	Negativa	11	2 281	2 292	40	1 734	1 774
	Totalt	160	2 340	2 500	660	1 841	2 501
MRSA Sensitivitet: 93,1 % (149/160) (95 % KI: 88,1–96,1 %) Specificitet: 97,5 % (2 281/2 340) (95 % KI: 96,8–98,0 %) Prevalens: 6,4 % PPV: 71,6 % NPV: 99,5 % SA Sensitivitet: 93,9 % (620/660) (95 % KI: 91,9–95,5 %) Specificitet: 94,2 % (1 734/1 841) (95 % KI: 93,0–95,2 %) Prevalens: 26,4 % PPV: 85,3 % NPV: 97,7 %							

Obs! Personer med både direktodling och giltiga resultat med testet **cobas®** MRSA/SA bedöms som utvärderingsbara och är inkluderade i den här tabellen.

MRSA = meticillinresistent *Staphylococcus aureus*; NPV = negativt prediktionsvärde; PPV = positivt prediktionsvärde;

SA = *Staphylococcus aureus*.

Jämförelse av resultat för testet cobas® MRSA/SA och direktodling

Resultaten för testet **cobas®** MRSA/SA jämfördes med direktodling från 2 504 utvärderingsbara resultat och visas i Tabell 23.

Överensstämmelsen för total, positiv och negativ procentandel för testet **cobas®** MRSA/SA för MRSA jämfört med direktodling var 96,9 % (2 427/2 504), 97,1 % (135/139) respektive 96,9 % (2 292/2 365) och prevalensen var 5,6 %.

Överensstämmelsen för total, positiv och negativ procentandel för testet **cobas®** MRSA/SA för SA jämfört med direktodling var 93,3 % (2 336/2 504), 97,0 % (577/595) respektive 92,1 % (1 759/1 909) och prevalensen var 23,8 %.

Tabell 23 Jämförelse av resultat för testet **cobas®** MRSA/SA och direktodling

		Direktodling					
		MRSA			SA		
		Positiva	Negativa	Totalt	Positiva	Negativa	Totalt
Testet cobas® MRSA/SA	Positiva	135	73	208	577	150	727
	Negativa	4	2 292	2 296	18	1 759	1 777
	Totalt	139	2 365	2 504	595	1 909	2 504
MRSA Överensstämmelse för positiv procentandel: 97,1 % (135/139) (95 % KI: 92,8–98,9 %) Överensstämmelse för negativ procentandel: 96,9 % (2 292/2 365) (95 % KI: 96,1–97,5 %) Total procentuell överensstämmelse: 96,9 % (2 427/2 504) (95 % KI: 96,2–97,5 %) Prevalens: 5,6 % SA Överensstämmelse för positiv procentandel: 97,0 % (577/595) (95 % KI: 95,3–98,1 %) Överensstämmelse för negativ procentandel: 92,1 % (1 759/1 909) (95 % KI: 90,8–93,3 %) Total procentuell överensstämmelse: 93,3 % (2 336/2 504) (95 % KI: 92,2–94,2 %) Prevalens: 23,8 %							

Obs! Personer med både direktodling och giltiga resultat med testet **cobas®** MRSA/SA bedöms som utvärderingsbara och är inkluderade i den här tabellen.

MRSA = meticillinresistent *Staphylococcus aureus*; SA = *Staphylococcus aureus*.

Avvikelseanalys för avvikande och överensstämmande prover

Avvikelseanalys utfördes på alla avvikande prover (Tabell 22), och en slumpmässigt vald andel överensstämmande prover inkluderades som kontroller, mellan testet **cobas®** MRSA/SA och kombinerad direktodling och anrikningsodling (referensmetod), med hjälp av ett annat FDA-godkänt nukleinsyra-amplifieringstest (NAAT) och en icke-selektiv direktodling och anrikningsodling.

Det fanns totalt 70 prover med avvikande MRSA-resultat: 11 falskt negativa MRSA-resultat och 59 falskt positiva MRSA-resultat (Tabell 22). Av de 11 falskt negativa MRSA-proverna testades 5 prover MRSA-negativt med en annan NAAT-metod och icke-selektiv direktodling och anrikningsodling. Av de 59 falskt positiva MRSA-proverna testades 20 prover MRSA-positivt med en annan NAAT-metod eller icke-selektiv direktodling och/eller anrikningsodling.

Det fanns totalt 147 prover med avvikande SA-resultat: 40 falskt negativa SA-resultat och 107 falskt positiva SA-resultat (Tabell 22). Av de 40 falskt negativa SA-proverna testades 31 prover SA-negativt med en annan NAAT-metod och icke-selektiv direktodling och anrikningsodling. Av de 107 falskt positiva SA-proverna testades 24 prover SA-positivt med en annan NAAT-metod eller icke-selektiv direktodling och/eller anrikningsodling.

I avvikelseanalysen fanns även 74 slumpmässigt utvalda överensstämmande prover inkluderade som kontroller: 25 MRSA-positiva, 25 SA-negativa och 24 SA-positiva/MRSA-negativa överensstämmande prover. Av de 74 kontrollerna testades samtliga 25 MRSA-positiva prover MRSA-positivt med en annan NAAT-metod eller icke-selektiv direktodling och/eller anrikningsodling; samtliga 25 SA-negativa prover testades SA-negativt med en annan NAAT-metod och icke-selektiv direktodling och anrikningsodling, och av de 24 SA-positiva proverna testades 21 SA-positivt med en annan NAAT-metod eller icke-selektiv direktodling och/eller anrikningsodling, 1 testades MRSA-positivt med icke-selektiv anrikningsodling och 2 testades SA-negativt med en annan NAAT-metod och icke-selektiv direktodling och anrikningsodling.

Förväntade värden

Prevalens

Prevalensen för näsbärarskap av MRSA och SA beror på en rad olika faktorer, inklusive långtidsboende på vårdhem, tidigare MRSA-infektion eller -kolonisation, diabetes mellitus, nära kontakt med MRSA/SA-bärare samt tidigare antibiotikabehandling. Den totala prevalensen för MRSA och SA som observerades med testet **cobas**® MRSA/SA jämfört med kombinerad direktodling och anrikningsodling under en klinisk multicenterstudie var 6,4 % respektive 26,4 %.

Hypotetiska positiva och negativa prediktionsvärden för testet **cobas**® MRSA/SA för MRSA

De hypotetiska positiva och negativa prediktionsvärdena (PPV och NPV) som hämtats från bärarskap på 1 till 30 % för testet **cobas**® MRSA/SA för MRSA visas i Tabell 24. Sensitiviteten och specificiteten för testet **cobas**® MRSA/SA jämfört med kombinerad direktodling och anrikningsodling (referens) för MRSA var 93,1 % respektive 97,5 %.

Tabell 24 Hypotetiska positiva och negativa prediktionsvärden för MRSA hämtade från prevalensen för näsbärarskap

Prevalens (%)	Sensitivitet (%)	Specificitet (%)	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 %

Obs! Sensitivitet och specificitet fastställdes genom att jämföra resultaten från testet **cobas**® MRSA/SA med kombinerad direktodling och anrikningsodling från nasala pinnprover från patienter som testats för förekomst av MRSA- eller SA-kolonisation.

NPV = negativt prediktionsvärde; PPV = positivt prediktionsvärde.

Hypotetiska positiva och negativa prediktionsvärden för testet cobas® MRSA/SA för SA

De hypotetiska positiva och negativa prediktionsvärdena (PPV och NPV) som hämtats från bärarskap på 1 till 30 % för testet **cobas®** MRSA/SA för SA visas i Tabell 25. Sensitiviteten och specificiteten för testet **cobas®** MRSA/SA jämfört med kombinerad direktodling och anrikningsodling (referens) för SA var 93,9 % respektive 94,2 %.

Tabell 25 Hypotetiska positiva och negativa prediktionsvärden för SA hämtade från prevalensen för näsbärarskap

Prevalens (%)	Sensitivitet (%)	Specificitet (%)	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 %

Obs! Sensitivitet och specificitet fastställdes genom att jämföra resultaten från testet **cobas®** MRSA/SA med kombinerad direktodling och anrikningsodling från nasala pinnprover från patienter som testats för förekomst av MRSA- eller SA-kolonisation.

NPV = negativt prediktionsvärde; PPV = positivt prediktionsvärde.

Ytterligare information

Viktiga analyssegenskaper

Provtyp	Nasalt pinnprov
Mängd prov som krävs	1,6 ml MSwab-medium i primärrör, minst 700 µl krävs för ett cobas® MRSA/SA-test.
Tidsåtgång	Resultat finns tillgängliga inom 2,5 timmar efter det att proverna laddats på systemet (1–22 prover).
Analytisk känslighet	Från 175 CFU/pinne till 750 CFU/pinne beroende på isolat.
Specificitet	Ingen korsreaktivitet med 147 närbesläktade organismer eller organismer som är vanligt förekommande i nasala pinnprover.
Inklusivitet	Totalt 314 MRSA-isolat och 91 SA-isolat från 16 länder, representativa för minst 7 SCCmec-typer, 10 RE-typer och 71 spa-typer testades och detekterades.

Symboler

Följande symboler används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.

Tabell 26 Symboler som används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter

	Ålder eller födelsedatum		Produkt ej avsedd för patientnära testning		QS IU per PCR-reaktion, använd antalet internationella enheter (IU) för QS per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.
	Stödprogramvara		Produkt ej avsedd för självtestning		Serienummer
	Tilldelat intervall (kopior/ml)		Distributör (Obs! Det tillämpliga landet/regionen kan vara betecknat nedanför symbolen.)		Plats
	Tilldelat intervall (IU/ml)		Får ej återanvändas		Standardprocedur
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen		Kvinna		Steriliserad med etylenoxid
	Streckodsdatablad		Endast för IVD-prestandautvärdering		Förvaras mörkt
	Lotnummer		GTIN-nummer		Temperaturgräns
	Biologisk risk		Importör		Testdefinitionsfil
	Katalognummer		Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik		Denna sida upp
	CE-märkning om överensstämmelse: den här enheten uppfyller alla tillämpliga krav för CE-märkning av en medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik		Lägre gräns för tilldelat intervall		Ultrasensitiv procedur
	Provtagningsdatum		Man		Unikt enhets-ID
	Se bruksanvisningen		Tillverkare		Övre gräns för tilldelat intervall
	Innehåller tillräckligt med reagens för <n> analyser		Negativ kontroll		Urinfyllnadsnivå
	Utrustningen innehåller		Icke-steril		Endast USA: Särskilda nationella regler kan gälla för försäljning av den här enheten.
	Kontroll		Patientens namn		Utgångsdatum
	Tillverkningsdatum		Patientnummer		
	Produkt för patientnära testning		Öppna här		
	Produkt för självtestning		Positiv kontroll		
			QS-kopior per PCR-reaktion, använd antalet QS-kopior per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.		

Teknisk support

Om du behöver teknisk support kontaktar du Roche kundsupport via:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tillverkare och importör

Tabell 27 Tillverkare och importör



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

Tillverkad i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Varumärken och patent

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.

Litteraturförteckning

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.

Revidering av dokumentet

Information om revidering av dokumentet	
Doc. Rev. 5.0 02/2024	Lysis Kit 1 riskinformationen har uppdaterats. Varumärket cobas ® har uppdaterats. Kontakta din representant från Roche vid eventuella frågor.
Doc. Rev. 6.0 06/2024	Riskinformation för provpreparationskit har uppdaterats. Symbolen för Rx Only har tagits bort från första sidan. Sidan med harmoniserade symboler har uppdaterats. Kontakta din representant från Roche vid eventuella frågor.
Doc. Rev. 7.0 08/2024	Riskinformation för Wash Buffer Kits har uppdaterats. Kontakta din representant från Roche vid eventuella frågor.

Sammanfattningen av säkerhets- och prestandarapporten finns på följande länk:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>