

cobas[®] **MRSA/SA Test**

na použitie v systéme **cobas**[®] 4800

Na diagnostické použitie *in vitro*



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

OBSAH

Účel použitia

Súhrn a vysvetlenie testu/princípy postupu

Základné informácie: Skrining MRSA a SA	4
Vysvetlenie testu	5
Princípy procedúry	5
Príprava vzorky	5
Amplifikácia PCR a detekcia TaqMan®	5
Selektívna amplifikácia	5

Materiály, činidlá a vzorky

Poskytované materiály a činidlá	6
Skladovanie činidiel a manipulácia s nimi	8
Ďalšie vyžadované materiály	13
Voliteľné materiály	13
Vyžadované zariadenia a softvér, ktoré nie sú súčasťou dodávky	13

Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu

Výstrahy a preventívne opatrenia	14
Vhodné laboratórne postupy	14
Kontaminácia	15
Integrita	15
Likvidácia	15
Rozliate látky a čistenie	15
Odber, preprava a skladovanie vzoriek	16
Odber vzoriek	16
Skladovanie a stabilita vzoriek počas prepravy	16

Návod na použitie

Spustenie testu	17
Pracovný postup	17
Postup testovania	17

Výsledky

Kontrola kvality a platnosť výsledkov	22
Pozitívna kontrolná vzorka	22
Negatívna kontrolná vzorka	22
Vnútoraná kontrolná vzorka	22
Interpretácia výsledkov	23
Zoznam príznakov výsledkov	25

Kultivácia klinických vzoriek	25
Procedurálne obmedzenia	26
Hodnotenie neklinickej účinnosti	
Analytická citlivosť	28
Detekcia genotypov MRSA a SA	28
Zemepisná inkluzívnosť	30
Presnosť	31
Kompetitívna inhibícia	32
Analytická špecifickosť	33
Interferencia	36
Klinická účinnosť na základe klinických vzoriek	37
Výsledky reprodukovateľnosti MRSA	40
Výsledky reprodukovateľnosti SA	41
Klinická účinnosť	42
Výsledky	43
Očakávané hodnoty	46
Ďalšie informácie	
Kľúčové funkcie analýzy	48
Symboly	49
Technická podpora	50
Výrobca a dovozca	50
Ochranné známky a patenty	50
Autorské práva	50
Literatúra	51
Revízia dokumentu	52

Účel použitia

Test **cobas**® MRSA/SA v systéme **cobas**® 4800 je automatizovaný test *in vitro*, ktorý využíva PCR v reálnom čase na kvalitatívnu detekciu DNA meticilín-rezistentých baktérií *Staphylococcus aureus* (MRSA) a *Staphylococcus aureus* (SA) z nosových tampónových tyčiniek ako pomôcku na prevenciu a reguláciu infekcií MRSA a SA v zdravotníckych zariadeniach. Test **cobas**® MRSA/SA nie je určený na diagnostiku, riadenie ani monitorovanie liečby infekcií MRSA alebo SA ani na poskytovanie výsledkov citlivosti na meticilín. Negatívny výsledok nevyklučuje kolonizáciu nosovej dutiny kmeňom MRSA/SA. Sprievodné kultúry sú potrebné iba na obnovenie organizmov na epidemiologické typovanie alebo na ďalšie testovanie citlivosti.

Súhrn a vysvetlenie testu/princípy postupu

Základné informácie: Skrining MRSA a SA

SA je oportunistický patogén prenášaný ako symbiotický organizmus na pokožke a v nosných otvoroch približne u 30 % normálnej populácie. Má potenciál spôsobiť široké spektrum ochorení.¹ SA sa dokáže rýchlo prispôbiť selektívnemu tlaku antibiotík, výsledkom čoho je vznik a rozšírenie kmeňov MRSA. Odolnosť voči meticilínu (okrem iných β -laktámových antibiotík) je sprostredkovaná génovým produktom *mecA*, ktorý sa nachádza na mobilnom genetickom prvku – stafylokokovom kazetovom chromozóme *mec* (SCC*mec*). Gén *mecA* kóduje zmenený proteín viažuci penicilín (PBP) 2a. Takto sa zabraňuje normálnemu viazaniu β -laktámových antibiotík na PBP v bunkovej stene, v ktorej by spôsobili rozpad syntézy peptidoglykánovej vrstvy, čo by viedlo k smrti bakteriálnych buniek. Existuje viacero typov SCC*mec*.² Na celom svete sa vyvinulo a rozšírilo mnoho kmeňov MRSA a rôzne línie (štruktúry) SA absorbovali SCC*mec*.²

Kmene SA a MRSA sú hlavným zdrojom infekcií získaných v zdravotníckych zariadeniach a už dlhé roky sú zodpovedné za bakteriálne epidémie v zdravotníckych zariadeniach na celom svete.^{3,4} Infekcie SA a MRSA predstavujú významné bremeno pre systém zdravotnej starostlivosti a jednotlivé nemocnice a súvisia s významnými nákladmi v oblasti zdravotnej starostlivosti.⁵ Pokyny a odporúčania⁶, ako aj štandardné nemocničné postupy odporúčajú vykonávať aktívny skrining a izoláciu/dekolonizáciu pacientov ako nástroje na reguláciu rozšírenia infekcií MRSA a SA.⁷

V prípade epidémií je možné implementovať ďalšie opatrenia, ako napríklad skrining hospitalizovaných pacientov a pracovníkov zdravotníckeho zariadenia, a zatvorenie lôžkového oddelenia. Okrem verejných pokynov sa štandardné prevádzkové postupy regulácie výskytu infekcie môžu v jednotlivých krajinách a nemocniciach líšiť.

Citlivosť používaných metód a doba potrebná na získanie výsledku sú kľúčovými faktormi úspechu stratégií skriningu a liečby.⁸ Získanie preukázateľných výsledkov pomocou konvenčných kultivačných metód trvá niekoľko dní a neumožňuje urýchlene implementovať špecifické opatrenia na reguláciu infekcie, ale vyžaduje použitie všeobecnejších opatrení na reguláciu infekcie u všetkých pacientov. Včasnú detekciu MRSA a SA u kolonizovaných pacientov a následnú implementáciu vhodných preventívnych opatrení umožňujú iba rýchle postupy (napríklad molekulárne metódy).⁹ Mnohé správy potvrdzujú význam rýchlych molekulárnych testov v rámci rýchlej detekcie kolonizácie baktériami MRSA a SA.¹⁰⁻¹³

Test **cobas**® MRSA/SA slúži na spracovanie vzoriek z nosových tampónových tyčiniek zhromaždených pomocou súpravy na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek COPAN MSwab. Skúmavky obsahujúce primárne vzorky sa vkladajú do systému **cobas**® 4800 a následne automaticky dochádza k extrakcii

nukleovej kyseliny a reakcii PCR. Následný proces PCR v reálnom čase deteguje vo vzorke cieľovú DNA špecifickú pre MRSA a SA (ak je prítomná). Tento test je možné spúšťať spolu s testami **cobas**® Cdiff a **cobas**® HSV 1 a 2 v zmiešanej dávke v rámci jedného cyklu. Všetky tri testy používajú rovnaký automatizovaný proces extrakcie vzorky a profil PCR na amplifikáciu a detekciu.

Vysvetlenie testu

Test **cobas**® MRSA/SA sa skladá z dvoch hlavných procesov: (1) automatizovaná príprava vzorky na extrakciu nukleových kyselín z nosových vzoriek, (2) amplifikácia PCR cieľových sekvencií DNA s použitím primerov špecifických pre MRSA a SA a detekcia v reálnom čase zameraná na rozštiepené a fluorescenčne označené oligonukleotické detekčné sondy špecifické pre MRSA a SA. Vnútna kontrolná vzorka obsahujúca nesúvisiacu randomizovanú sekvenciu DNA sa pridáva ku všetkým vzorkám pred automatizovanou prípravou vzoriek a deteguje sa súčasne s každou vzorkou za účelom monitorovania celého procesu.

Princípy procedúry

Príprava vzorky

Príprava vzoriek pre test **cobas**® MRSA/SA je automatizovaná s použitím prístroja **cobas**® x 480. Organizmy sa rozložia pomocou chaotropického činidla, proteínázy K a činidiel SDS. Uvoľnené nukleové kyseliny spolu s pridanou vnútornou kontrolnou DNA sa naviažu na magnetické sklenené častice. Vymyjú sa a následne sa vylúhujú do pufru s malým objemom. Zariadenie následne prevezme pomernú časť vylúhovaného materiálu a nastaví reakciu PCR s aktivovanou hlavnou zmesou.

Amplifikácia PCR a detekcia TaqMan®

Kroky cyklu PCR a detekcia cieľového signálu sa vykonávajú v analyzátore **cobas**® z 480. Hlavná zmes obsahuje primerové páry a sondy zamerané na tri ciele: oblasť priesečníka pravého konca (RE) kazety SCCmec, ktorá je špecifická pre MRSA, genomické cieľové sekvencie pre všetky SA (vrátane MRSA) a vnútornú kontrolnú vzorku. Ak sú prítomné sekvencie cieľovej nukleovej kyseliny, amplifikácia s použitím príslušných primerov sa uskutoční v tepelne stabilnej DNA polymeráze, čím sa vytvoria produkty PCR (amplikón). Tieto produkty sa detegujú pomocou špecifických sond TaqMan, ktoré obsahujú fluorescenčné farbivo a tlmiace farbivo. Tlmiace farbivo obvykle potláča fluorescenciu farbiva. Ak je však prítomný produkt PCR, sonda sa hybridizuje do produktu a rozštiepi sa 5' až 3' aktivitou nukleázy polymerázy. Z tohto dôvodu sa z farbiva emituje fluorescencia a zaznamenáva sa signál v reálnom čase počas každého cyklu PCR v analyzátore **cobas**® z 480. Signál interpretuje systémový softvér **cobas**® 4800 a vykazuje sa ako záverečné výsledky.


Selektívna amplifikácia


Selektívna amplifikácia cieľovej nukleovej kyseliny zo vzorky sa dosiahne v rámci testu **cobas**® MRSA/SA použitím enzýmu AmpErase (uracil-N-glykosyláza) a deoxyuridín-trifosfátu (dUTP). Enzým AmpErase rozpoznáva a katalyzuje rozpad reťazcov DNA obsahujúcich deoxyuridín¹¹, nie však DNA, ktorá obsahuje deoxytimidín. Deoxyuridín sa v bežne existujúcej DNA nevyskytuje, vždy sa však vyskytuje v amplikóne a to v dôsledku použitia deoxyuridín trifosfátu namiesto thymidín trifosfátu ako jedného z dNTP v Hlavnom činidle; preto deoxyuridín obsahuje iba amplikón. Deoxyuridín spôsobuje citlivosť kontaminujúceho amplikóna na zničenie pomocou enzýmu AmpErase ešte pred amplifikáciou cieľovej DNA. Enzým AmpErase, ktorý je súčasťou Hlavného činidla, katalyzuje štiepenie DNA obsahujúcej deoxyuridín vo zvyškoch deoxyuridínu prostredníctvom otvorenia reťazca deoxyribózy



v mieste C1. Pri zahriatí v rámci prvého kroku tepelného cyklu pri alkalickom pH hlavnej zmesi sa reťazec DNA amplikóna rozdelí v mieste deoxyuridínu, čím spôsobí to, že DNA sa nedá amplifikovať. Enzým AmpErase je neaktívny pri teplotách nad 55 °C, t. j. v priebehu jednotlivých krokov tepelného cyklu, a preto nedochádza k zničeniu cieľového amplikóna. Bolo preukázané, že test **cobas®** MRSA/SA inaktivuje najmenej 10³ kópií amplikóna MRSA/SA obsahujúceho deoxyuridín na jednu reakciu PCR.


Materiály, činidlá a vzorky


Poskytované materiály a činidlá

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Súprava systému cobas® 4800 na prípravu vzoriek) 240 testov (P/N: 05235782190)	MGP (Magnetické sklenené častice systému cobas® 4800) magnetické sklenené častice 93 % izopropanol**	10 × 4,5 ml	 <p>NEBEZPEČENSTVO H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary. H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí. H336: Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty. P210: Uchovávať mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčite. P233: Nádobu uchovávať tesne uzavretú. P261: Zabráňte vdychovaniu hmly alebo pár. P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre/prostriedky na ochranu sluchu. P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku opláchnite vodou. P370 + P378: V prípade požiaru: Na hasenie použite suchý piesok, suchú chemikáliu alebo penu odolnú voči alkoholu. 67-63-0 Propan-2-ol</p>
	EB (Elučný pufer systému cobas® 4800) Pufer Tris 0,09 % Azid sodný	10 × 18 ml	nedostupné

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
<p>cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Súprava systému cobas® 4800 na prípravu vzoriek) 960 testov (P/N: 05235804190)</p>	<p>MGP (Magnetické sklenené častice systému cobas® 4800) magnetické sklenené častice 93 % izopropanol**</p>	10 × 13,5 ml	 <p>NEBEZPEČENSTVO H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary. H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí. H336: Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty. P210: Uchovávajte mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčite. P233: Nádobu uchovávajte tesne uzavretú. P261: Zabráňte vdychovaniu hmly alebo pár. P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre/prostriedky na ochranu sluchu. P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku opláchnite vodou. P370 + P378: V prípade požiaru: Na hasenie použite suchý piesok, suchú chemikáliu alebo penu odolnú voči alkoholu. 67-63-0 Propan-2-ol</p>
	<p>EB (Elučný pufer systému cobas® 4800) Pufer Tris 0,09 % Azid sodný</p>	10 × 18 ml	nedostupné

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 testov (P/N: 06768253190)	LYS-1 (Dezintegračný pufer 1 systému cobas® 4800) Citran sodný 5 % polydokanol** 42,6 % guanidínium tiokyanát** Ditiotreitol**	10 × 10 ml	 <p>NEBEZPEČENSTVO H302: Škodlivý po požití. H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. H411: Toxický pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. EUH032: Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn. EUH071: Žieravé pre dýchacie cesty. P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ ochranné okuliare/ochranu tváre/prostriedky na ochranu sluchu. P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku opláchnite vodou. P304 + P340 + P310: PO VDÝCHNUTÍ: presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P305 + P351 + P338 + P310: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P391: Zozbierajte uniknutý produkt. 593-84-0 Guanidínium tiokyanát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol</p>
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 testov (P/N: 06768253190)	PK (Proteináza K systému cobas® 4800) Tris pufer EDTA Chlorid vápenatý Octan vápenatý < 2,0 % proteináza K* Glycerín	10 × 0,9 ml	 <p>NEBEZPEČENSTVO H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. H334: Pri vdýchnutí môže vyvolať alergiu alebo príznaky astmy, alebo dýchacie ťažkosti. P261: Zabráňte vdychovaniu hmly alebo pár. P280: Používajte ochranné rukavice. P284: Používajte ochranu dýchacích ciest. P304 + P340: PO VDÝCHNUTÍ: presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. P333 + P313: Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P342 + P311: Pri sťaženom dýchaní: volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. 39450-01-6 Proteináza, <i>Tritirachium album</i> serín</p>

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
	SDS (SDS činidlo systému cobas® 4800) Tris pufer Dodecylsulfát sodný 0,09 % azid sodný	10 × 3 ml	Nedostupné
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 testov (P/N: 06768270190)	LYS-1 (Dezintegračný pufer 1 systému cobas® 4800) Citran sodný 5 % polydokanol** 42,6 % guanidínium tiokyanát** Ditiotreitol**	10 × 36 ml	 <p>NEBEZPEČENSTVO</p> <p>H302: Škodlivý po požití.</p> <p>H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.</p> <p>H411: Toxický pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.</p> <p>EUH032: Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn.</p> <p>EUH071: Žieravé pre dýchacie cesty.</p> <p>P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.</p> <p>P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ ochranné okuliare/ochranu tváre/prostriedky na ochranu sluchu.</p> <p>P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku opláchnite vodou.</p> <p>P304 + P340 + P310: PO VDÝCHNUTÍ: presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.</p> <p>P391: Zozbierajte uniknutý produkt.</p> <p>593-84-0 Guanidínium tiokyanát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol</p>

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 testov (P/N: 06768270190)	PK (Proteináza K systému cobas® 4800) Tris pufer EDTA Chlorid vápenatý Octan vápenatý < 2,0 % proteináza K** Glycerín	20 × 1,2 ml	 NEBEZPEČENSTVO H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. H334: Pri vdýchnutí môže vyvolať alergiu alebo príznaky astmy, alebo dýchacie ťažkosti. P261: Zabráňte vdychovaniu hmly alebo pár. P280: Používajte ochranné rukavice. P284: Používajte ochranu dýchacích ciest. P304 + P340: PO VDÝCHNUTÍ: presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. P333 + P313: Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P342 + P311: Pri sťaženom dýchaní: volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. 39450-01-6 Proteináza, <i>Tritirachium album</i> serín
	SDS (SDS činidlo systému cobas® 4800) Tris pufer Dodecylsulfát sodný 0,09 % azid sodný	10 × 9 ml	Nedostupné
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 testov (P/N: 05235863190)	WB (Vymývací pufer systému cobas® 4800) Dihydrát citrónanu sodného 0,05 % N-metylizotiazolon HCl	10 × 55 ml	Nedostupné
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 testov (P/N: 05235871190)	WB (Vymývací pufer systému cobas® 4800) Dihydrát citrónanu sodného 0,05 % N-metylizotiazolon HCl	10 × 200 ml	Nedostupné
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 cyklov (P/N: 06768318190)	IC-1 (cobas® 4800 IC-1) Tris pufer EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetická) 0,05 % azid sodný < 0,01 % neinfekčná syntetická DNA pre vnútornú kontrolu uzavretá v obalovom proteíne bakteriofágu Lambda	20 × 0,5 ml	Nedostupné

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit 80 testov (P/N: 06768113190)	MRSA/SA MMX (Hlavná zmes cobas® MRSA/SA) Pufer Tricín EDTA Octan draselný Hydroxid draselný Tween 20 Glycerol 0,09 % azid sodný < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % antimediatorové a mediátorové MRSA, SA a primery pre vnútornú kontrolu < 0,01 % fluorescenčne označené MRSA, SA a označené sondy pre vnútornú kontrolu < 0,01 % oligonukleotid aptamér < 0,01 % polymeráza DNA Z05 (mikrobiálna) < 0,02 % enzým AmpErase (uracil-N-glykozyláza) (mikrobiálna)	10 × 0,3 ml	Nedostupné
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit 240 testov (P/N: 06768172190)	MRSA/SA MMX (Hlavná zmes cobas® MRSA/SA) Pufer Tricín EDTA Octan draselný Hydroxid draselný Tween 20 Glycerol 0,09 % azid sodný < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % antimediatorové a mediátorové MRSA, SA a primery pre vnútornú kontrolu < 0,01 % fluorescenčne označené MRSA, SA a označené sondy pre vnútornú kontrolu < 0,01 % oligonukleotid aptamér < 0,01 % polymeráza DNA Z05 (mikrobiálna) < 0,02 % enzým AmpErase (uracil-N-glykozyláza) (mikrobiálna)	10 × 0,7 ml	Nedostupné

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit 10 cyklov (P/N: 06768288190)	MRSA/SA (+) C (Pozitívna kontrolná cobas® MRSA/SA) Tris pufer EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetická) 0,05 % azid sodný < 0,01 % neinfekčná plazmidová DNA (mikrobiálna) obsahujúca sekvenciu MRSA < 0,01 % neinfekčná plazmidová DNA (mikrobiálna) obsahujúca sekvenciu SA	10 × 0,5 ml	Nedostupné
	(-) C (Negatívna kontrolná systému cobas® 4800) Tris pufer EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetická) 0,05 % azid sodný	10 × 0,5 ml	Nedostupné
	Cofactor-1 (Kofaktor 1 cobas® 4800) Octan manganatý Octan horečnatý 0,09 % azid sodný	10 × 1,7 ml	Nedostupné

* Označenie bezpečnosti výrobku sa riadi hlavne usmernením EÚ pre globálny harmonizovaný systém (GHS) klasifikácie a označovania chemikálií.

** Nebezpečná látka.

Skladovanie činidiel a manipulácia s nimi

Činidlo	Teplota skladovania	Doba skladovania
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Súprava systému cobas® 4800 na prípravu vzoriek)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Dezintegračná súprava 1 systému cobas® 4800)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Súprava vnútornej kontroly 1 systému cobas® 4800)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit (Amplifikačná/detekčná súprava cobas® 4800 MRSA/SA)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit (Súprava kontrol a kofaktorov cobas® 4800 MRSA/SA)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Súprava vymývacieho pufru systému cobas® 4800)	15 – 25 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie

Činidlá nezmrazujte.

Dátum expirácie činidla vychádza z koordinovaného svetového času (UTC). Miestny čas expirácie činidla môže byť posunutý o plus alebo mínus 12 hodín v závislosti od miestneho časového pásma vzhľadom na čas UTC.

Ďalšie vyžadované materiály

Materiály	P/N
Špičky CORE, 1 000 µl, stojan na 96 ks	04639642001
Nádoba na činidlo, 50 ml	05232732001
Nádoba na činidlo, 200 ml	05232759001
Extrakčná platňa systému cobas ® 4800 (hlboké jamky)	05232716001
Platňa AD (mikrotitračná) 0,3 ml systému cobas ® 4800 a tesniaca fólia	05232724001
Aplikátor na tesniacu fóliu	04900383001
Nosič s 32 polohami	04639529001
Vrečko na tuhý odpad	05530873001 (malé) alebo 04691989001 (veľké)
Plastový žliabok Hamilton STAR	Roche 04639669001
Systém na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab	07007248190 alebo COPAN P/N 404C.R alebo 404C
Jednorazové rukavice (bez púdry)	Môžete použiť akékoľvek jednorazové rukavice bez púdry.
Vortex (jedna skúmavka)	Môžete použiť akýkoľvek vortex.

Ďalšie informácie o osobitne predávaných materiáloch získate od miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Voliteľné materiály

Materiály	P/N
Uzáver na zakrytie alebo kryt na platňu s hlbokými jamkami	Roche 04789288001 alebo Hamilton 6474-01
Viečka, biela farba (na zatvorenie primárnych vzoriek po dokončení cyklu)	07033893001 alebo COPAN 2U008N100.R alebo 2U008N100

Ďalšie informácie o voliteľných materiáloch získate od miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Vyžadované zariadenia a softvér, ktoré nie sú súčasťou dodávky

Vyžadované zariadenia a softvér (nie sú súčasťou dodávky)
Systém cobas ® 4800 Prístroj cobas ® x 480 Analyzátor cobas ® z 480 Riadiaca jednotka
Systém cobas ® 4800 – softvér cobas ® MRSA/SA AP, verzia 1.0.0 alebo novšia
Aplikačný (základný) softvér systému cobas ® 4800, verzia 2.2.0 alebo novšia

Ďalšie informácie o osobitne predávaných materiáloch získate od miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu

Výstrahy a preventívne opatrenia

Tak, ako pri každom testovaní, aj v tomto prípade platí, že základom správneho vykonania tejto analýzy je správny laboratórny postup. Vzhľadom na vysokú analytickú citlivosť tohto testu je potrebné v maximálnej miere dbať na to, aby nedošlo ku kontaminácii činidiel, vzoriek a amplifikačných zmesí.

- Iba na diagnostické použitie *in vitro*.
- Dávajte pozor, aby nedošlo k mikrobiálnej kontaminácii činidiel a vzoriek a takisto zabráňte kontaminácii kyselinou DNA. Baktériu SA prenáša približne 30 % populácie a táto baktéria sa môže vyskytovať v nosných dierkach alebo na pokožke. Počas manipulácie so vzorkami a činidlami buďte mimoriadne opatrní, aby nedošlo k potenciálnej kontaminácii baktériou SA od operátora.
- Karty bezpečnostných údajov (SDS) sú k dispozícii na požiadanie od miestneho zastúpenia spoločnosti Roche.
- Činidlo LYS-1 obsahuje guanidín-tiocyanát. Dbajte na to, aby nedošlo k priamemu kontaktu guanidín-tiocyanátu a chlórnanu sodného (bielidlo) alebo iných vysoko reaktívnych činidiel, akými sú napríklad kyseliny alebo zásady. Tieto zmesi môžu uvoľňovať škodlivý plyn.
- MGP obsahuje izopropanol a je veľmi horľavá. Držte ju preč od otvoreného plameňa a od prostredia, ktoré môže produkovať iskry.
- Prípravky EB, MRSA/SA MMX, SDS, Cofactor-1, (-)C, MRSA/SA (+)C a IC-1 obsahujú azid sodný.
- Ďalšie výstrahy, preventívne opatrenia a postupy na obmedzenie rizika kontaminácie prístroja **cobas**® x 480 alebo analyzátora **cobas**® z 480 nájdete v používateľskej príručke k systému **cobas**® 4800. Ak máte podozrenie na kontamináciu, vykonajte čistenie a týždennú údržbu uvádzanú v príslušnej používateľskej príručke pre systém **cobas**® 4800.
- Informujte miestny kompetentný orgán a výrobcu o všetkých závažných udalostiach, ktoré sa môžu vyskytnúť pri používaní tohto testu.

Poznámka: Špecifické pokyny nájdete v časti „Odber, preprava a skladovanie vzoriek“.

Vhodné laboratórne postupy

- Pipetu nenaplňajte pomocou úst.
- V pracovných oblastiach laboratória nejedzte, nepite ani nefajčite.
- Po ukončení práce so vzorkami a testovacími činidlami si dôkladne umyte ruky.
- Pri práci s každým činidlom používajte vhodné prostriedky na ochranu očí, laboratórne plášte a jednorazové rukavice. Zabráňte kontaktu týchto materiálov s kožou, očami a sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu, zasiahnuté miesto ihneď umyte veľkým množstvom vody. V prípade neošetrenia môžu vzniknúť popáleniny. Ak dôjde k rozliatiu týchto činidiel, pred ich utretím do sucha ich zriedte vodou.
- Všetky pracovné povrchy v laboratóriu dôkladne vyčistíte a vydezinfikujete pomocou čerstvo pripraveného 0,5 % roztoku chlórnanu sodného v deionizovanej alebo destilovanej vode (bežné domáce bielidlo zriedené v pomere 1:10). Následne pracovné povrchy utrite utierkou namočenou do 70 % etanolu.

Kontaminácia

- Je nevyhnutné nosiť rukavice a rukavice je medzi manipuláciami s jednotlivými vzorkami a činidlami **cobas**® MRSA/SA nutné meniť, aby nedošlo ku kontaminácii. Pri manipulácii so vzorkami a kontrolnými vzorkami dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii rukavíc. Pri manipulácii so vzorkami a činidlami súpravy používajte laboratórne rukavice, laboratórne plášte a ochranné prostriedky na oči.
- Dbajte na to, aby nedošlo k mikrobiálnej a ribonukleázovej kontaminácii činidiel.
- Ak počas manipulácie so vzorkami nezabránite vzájomnej kontaminácii vzoriek, hrozí riziko nesprávnych pozitívnych výsledkov.
- So vzorkami je potrebné manipulovať ako s infekčným materiálom a je potrebné používať bezpečné laboratórne postupy, napríklad postupy uvádzané v dokumente *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁴ a v dokumente CLSI M29-A4.¹⁵

Integrita

- Nepoužívajte súpravy po uplynutí dátumu expirácie.
- Činidlá nemiešajte.
- Jednorazové položky nepoužívajte po uplynutí ich dátumu expirácie.
- Nepoužívajte činidlá ani nádoby, ktoré sú viditeľne poškodené alebo z nich dochádza k úniku činidla.
- Všetky jednorazové položky sú určené na jedno použitie. Nepoužívajte ich opätovne.
- Všetko zariadenie sa musí riadne udržiavať podľa pokynov príslušných výrobcov.

Likvidácia

- Činidlá systému **cobas**® 4800 a špecifické činidlá testu **cobas**® MRSA/SA obsahujú azid sodný (prečítajte si časť „**Výstrahy a preventívne opatrenia**“). Azid sodný môže reagovať s olovenými a medenými rozvodmi a môže dochádzať k tvorbe vysoko výbušných kovových azidov. Ak vylievate roztoky obsahujúce azid sodný do laboratórnych drezov, vypláchnite odpadové potrubia veľkým množstvom vody, aby ste predišli usadzovaniu azidov.
- Pri likvidácii nepoužitých činidiel a odpadu postupujte v súlade s platnými štátnymi a miestnymi predpismi.

Poznámka: Informácie o likvidácii tekutého odpadu nájdete v používateľskej príručke k systému cobas® 4800.

Rozliate látky a čistenie

- Činidlo LYS-1 obsahuje guanidín-tiocyanát. Ak dôjde k rozliatiu tekutiny, ktorá obsahuje guanidín-tiocyanát, vyčistíte zasiahnuté miesto vhodným laboratórnym detergentom a vodou. Ak rozliata kvapalina obsahuje potenciálne infekčné látky, zasiahnuté miesto NAJSKÔR vyčistíte laboratórnym detergentom a vodou a potom 0,5 % roztokom chlórnanu sodného.
- Ak dôjde k rozliatiu/rozsypaniu materiálu na prístroj **cobas**® 4800, pri čistení postupujte podľa pokynov v používateľskej príručke k systému **cobas**® 4800.
- Nepoužívajte roztok chlórnanu sodného (bielidla) na čistenie prístroja **cobas**® x 480 ani analyzátor **cobas**® z 480. Prístroj **cobas**® x 480 alebo analyzátor **cobas**® z 480 čistite podľa postupov uvedených v používateľskej príručke k systému **cobas**® 4800.

Odber, preprava a skladovanie vzoriek

Poznámka: So všetkými vzorkami narábajte ako so vzorkami schopnými prenášať zdroje infekcií.

Odber vzoriek

Nosové vzorky na tampónovej tyčinke odoberané pomocou systému na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab boli schválené na používanie s testom **cobas®** MRSA/SA. Vzorky je potrebné odoberať pomocou postupu uvádzaného v časti „Postup odberu vzoriek“ a v súlade so štandardnými prevádzkovými postupmi vašej inštitúcie.

Skladovanie a stabilita vzoriek počas prepravy

Nosové vzorky na tampónovej tyčinke odobraté pomocou systému na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab sú stabilné počas prepravy a skladovania pri teplote 2 – 30 °C po dobu 4 dní, pri teplote 2 – 8 °C po dobu 9 dní a v zmrazenom stave pri teplote -20 °C sú stabilné 30 dní pred ich testovaním v systéme **cobas®** 4800 (bolo to dokázané formou testovania vzoriek po kontinuálnom skladovaní pri teplote 15 ± 1 °C a 31 ± 1 °C po dobu 4 dní, potom pri skladovaní pri teplote 2 – 8 °C po dobu 5 dní a potom pri teplote -20 ± 5 °C po dobu 30 dní).

Preprava vzoriek MRSA/SA musí spĺňať štátne, federálne a miestne predpisy týkajúce sa prepravy etiologických látok.

Návod na použitie

Spustenie testu

Pracovný postup

Obrázok 1: Postup práce s testom cobas® MRSA/SA

1	Spustíte systém.
2	Vykonajte údržbu prístroja.
3	Vyberte vzorky a činidlá z priestoru, v ktorom ich uchováivate.
4	Spustíte cyklus: <ul style="list-style-type: none"> • Vložte nosiče so vzorkami.
5	V prípade práce so systémom LIS: potvrdte objednávku práce. Bez použitia systému LIS: vytvorte objednávku práce.
6	Vložte spotrebný materiál (platňu s hlbokými jamkami, mikrotitračnú platňu, stojany na špičky) a činidlá.
7	Spustíte cyklus prípravy vzorky.
8	Vyberte mikrotitračnú platňu a utesnite ju.
9	Vyberte vzorky, použité činidlá a platňu s hlbokými jamkami.
10	Do analyzátoru vložte mikrotitračnú platňu.
11	Skontrolujte výsledky.
12	V prípade použitia systému LIS: odošlite výsledky do systému LIS.
13	Vyberte položky z analyzátoru.

Postup testovania

Postup odberu vzoriek

1. Použite plstenú tampónovú tyčinku zo súpravy na odber MSwab. Tampónovú tyčinku použite suchú alebo ju navlhčíte dvoma kvapkami sterilného fyziologického roztoku.
2. Opatrne zasuňte tampónovú tyčinku do nosnej dierky pacienta (hrot tampónovej tyčinky je potrebné zasunúť približne 2,5 cm hlboko od okraja nosnej dierky).
3. Otáčajte tampónovou tyčinkou na sliznici v nosnej dierke (3-krát).
4. Opakujte kroky 2 a 3 v druhej nosnej dierke pomocou rovnakej tampónovej tyčinky.
5. Vložte tampónovú tyčinku naspäť do prepravnej skúmavky. Pritlačením tampónovej tyčinky na okraj skúmavky zlomte tyčinku vo vyznačenom bode.
6. Riadne uzavrite uzáver a dbajte na to, aby sa horný koniec drieku tampónovej tyčinky nachádzal v strede uzáveru.
7. Označte vzorku a odošlite ju do testovacieho laboratória v súlade so štandardnými prevádzkovými pokynmi vašej inštitúcie (prečítajte si časť „**Skladovanie a stabilita vzoriek počas prepravy**“). Informácie o poznámkach ku vzorkám nájdete v časti „**Pracovný postup**“.

Všetky činidlá okrem MRSA/SA MMX a Cofactor-1 musia mať teplotu okolia pred ich vložením do prístroja **cobas**® x 480. Činidlá MRSA/SA MMX a Cofactor-1 je možné priamo vybrať z priestoru skladovania s teplotou 2 – 8 °C, pretože sa ich teplota vyrovná teplote okolia priamo v prístroji **cobas**® x 480, než sa budú používať v rámci procesu analýzy.

Poznámka: Pozrite si používateľskú príručku k systému cobas® 4800 s podrobnými pracovnými pokynmi.

Veľkosť cyklu

Systém **cobas**® 4800 dokáže spracovať rôzne testy v jednom cykle testov **cobas**® MRSA/SA, **cobas**® Cdiff a **cobas**® HSV 1 a 2. Všeobecná súprava na prípravu vzoriek v systéme **cobas**® 4800, všeobecná dezintegračná súprava 1 systému **cobas**® 4800 a všeobecná súprava vymývacích pufrov **cobas**® 4800 sú k dispozícii v dvoch veľkostiach, pričom každá postačuje na 10 cyklov s 24 alebo 96 vzorkami vrátane kontrolných vzoriek a vzoriek na všetky analýzy, ktoré chcete vykonať. Amplifikačná/detekčná súprava **cobas**® 4800 MRSA/SA je k dispozícii v dvoch veľkostiach, z ktorých každá postačuje na testovanie 80 alebo 240 vzoriek vrátane kontrolných vzoriek a vzoriek MRSA/SA na testovanie. V rámci jedného cyklu je možné použiť viacero fľaštičiek s hlavnou zmesou **cobas**® 4800 MRSA/SA (ak pochádzajú zo súpravy rovnakej veľkosti). Všeobecná súprava vnútornej kontroly 1 systému **cobas**® 4800 a súprava kontrolných vzoriek a kofaktora MRSA/SA **cobas**® 4800 sú k dispozícii v jednej veľkosti, ktorá postačuje na 20 a 10 cyklov a sú vhodné pre všetky konfigurácie cyklu. V rámci každého cyklu obsahujúceho vzorky MRSA/SA je potrebné použiť jednu pozitívnu kontrolnú vzorku **cobas**® 4800 MRSA/SA a jednu negatívnu kontrolnú vzorku systému **cobas**® 4800 (prečítajte si časť „**Kontrola kvality**“). Pokiaľ ide o cyklus s jedným testom, maximálny povolený počet je 94 vzoriek a dve kontrolné vzorky.

Poznámka: I keď použitie činidiel nebude optimálne, všeobecné činidlo na 96 testov je možné použiť na cyklus obsahujúci 1 – 22 vzoriek. Rôzne veľkosti súpravy vymývacieho pufra systému cobas® 4800 (WB), súpravy na prípravu vzoriek v systéme cobas® 4800 a dezintegračnej súpravy 1 systému cobas® 4800 nie je možné používať spolu. Ak napríklad na začiatku cyklu naskenujete fľašu s činidlom WB na 96 testov, je nevyhnutné použiť činidlá na 96 testov z ďalších dvoch súprav.

Poznámka: I keď použitie činidiel nebude optimálne, zmes cobas® 4800 MRSA/SA MMX na 24 testov je možné použiť v rámci cyklu obsahujúceho 1 – 6 vzoriek MRSA/SA. Podrobnosti o zmene veľkosti súpravy nájdete v používateľskej príručke pre systém cobas® 4800.

Pracovný postup

Test **cobas**® MRSA/SA sa vykonáva použitím úplného pracovného postupu v softvéri **cobas**® 4800. Skladá sa z prípravy vzorky v prístroji **cobas**® x 480 a z amplifikácie/detekcie v analyzátore **cobas**® z 480. Cyklus sa môže skladať iba z testu MRSA/SA alebo môže ísť o mix testov **cobas**® Cdiff alebo **cobas**® HSV 1 a 2. Podrobnosti nájdete v používateľskej príručke k systému **cobas**® 4800.

Vzorky

- Poznámka:** Test cobas® MRSA/SA bol schválený na používanie so systémom na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab. Nepoužívajte žiadne iné zariadenia s tampónovými tyčinkami na odber ani iné typy médií.
- Poznámka:** Správne odobratá nosová vzorka na tampónovej tyčinke by mala mať jeden tampón FLOQ s driekom tyčinky zachyteným v uzávere. Vzorky bez tampónov alebo s viac než jedným tampónom neboli odobraté podľa pokynov a nesmú sa testovať.
- Poznámka:** Nespracúvajte nosové vzorky na tampónovej tyčinke, ktoré sú krvavé alebo majú tmavohnedú farbu.
- Poznámka:** Vzorky sa musia nachádzať v nádobách na primárne vzorky so správnym čiarovým kódom na spracovanie v prístroji cobas® x 480. Prečítajte si používateľskú príručku k systému cobas® 4800, v ktorej nájdete správne postupy označovania čiarovými kódmi a zoznam prijateľných čiarových kódov pre systém cobas® 4800.
- Poznámka:** Aby sa predišlo krížovej kontaminácii, odporúčame, aby ste primárne skúmanky spracovali v systéme cobas® 4800 pred ich ďalším spracovaním a testovaním.
- Poznámka:** Aby sa predišlo krížovej kontaminácii spracovaných vzoriek, je potrebné na zatvorenie vzoriek po spracovaní použiť ďalšie viečka na nádobu so vzorkou MSwab s inou farbou (bielou, prečítajte si časť „Voliteľné materiály“).
- Poznámka:** Nosové vzorky na tampónovej tyčinke odobraté do média MSwab obsahujú dostatočný objem na dvojnásobnú analýzu v systéme cobas® 4800 a je ich možné použiť aj na ďalšie spracovanie kultúry (pozrite časť „Kultivácia klinických vzoriek“) za predpokladu, že pred začatím testu nedošlo počas manipulácie so vzorkami k žiadnemu rozliatiu. Informácie o kultivačnom očkovaní nájdete v príbalovom letáku k systému na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab. Minimálny objem vzorky na spustenie cyklu cobas® MRSA/SA je 700 µl v nádobe s primárnou vzorkou MSwab.

Vykonávanie testu cobas® MRSA/SA

Poznámka: K dispozícii je možnosť realizácie zmiešaných cyklov s testami cobas® MRSA/SA a cobas® Cdiff alebo cobas® HSV 1 a 2. Viac podrobností nájdete v používateľskej príručke pre systém cobas® 4800.

1. Vykonajte procedúry spustenia systému a údržby v súlade s pokynmi v používateľskej príručke k systému cobas® 4800.
2. Pripravte si všetky potrebné činidlá a spotrebný materiál. Činidlá musia mať v čase spustenia cyklu izbovú teplotu s výnimkou činidiel cobas® MRSA/SA MMX a Cofactor-1.

Poznámka: Všetky činidlá a zásobníky na činidlá majú čiarové kódy a sú určené na jednorazové použitie. Softvér cobas® 4800 sleduje použitie činidiel a nádob na činidlá a odmietne použiť už použité činidlá alebo nádoby na činidlá.

3. Skontrolujte vzhľad nosových vzoriek na tampónovej tyčinke odobratých do média MSwab a overte, či spĺňajú požiadavky uvádzané v časti „**Vzorky**“. Overte, či sú všetky uzávery riadne dotiahnuté. Premiešajte vzorku vo vortexe po dobu najmenej 10 sekúnd. Otvorte skúmavku (horná časť tampónovej tyčinky by mala byť zachytená v uzávere) a vírivým pohybom tampónovej tyčinky okolo vnútornej steny skúmavky odstráňte nadbytočnú tekutinu. Uzáver spolu s tampónovou tyčinkou zlikvidujte bezprostredne pred vložením do systému **cobas**® 4800. Uistite sa, že ste spolu s uzáverom vybrali aj tampónovú tyčinku. Tampónová tyčinka ponechaná vo fľaštičke so vzorkou naruší priebeh testu **cobas**® MRSA/SA.
4. Spustíte nový cyklus a definujete pracovnú objednávku pre cyklus. Na vytvorenie pracovnej objednávky sú k dispozícii tri spôsoby:
 - Použitím editora vzoriek pred vložením stojana na vzorky do prístroja **cobas**® x 480 (tlačidlo „Editor“ v pravej časti hlavnej ponuky). Pracovné objednávky je možné uložiť, upraviť a podľa potreby znova načítať.
 - Pomocou softvérového sprievodcu novým cyklom a vložením vzoriek do prístroja **cobas**® x 480 po zobrazení systémovej výzvy. Čiarové kódy vzoriek sa automaticky naskenujú a následne bude potrebné definovať požadované výsledky pre každú vzorku.
 - Použitím systému LIS vo vašej inštitúcii.

Viac podrobností nájdete v používateľskej príručke k systému **cobas**® 4800. Počas výberu požadovaných výsledkov začiarknite políčko „MRSA“, obidve políčka „MRSA“ a „SA“ alebo iba políčko „SA“ (v závislosti od testov, ktoré chcete vykonať). Ak napríklad vyberiete iba možnosť „SA“, výsledky MRSA nebudú k dispozícii.

5. Vložte vzorky a definujte alebo vyberte pracovnú objednávku, prípadne použite systém LIS. Možnosť „Unload sample carriers after transferring to deep well plate“ bude predvolene vybratá. Takto bude môcť operátor načítať zvyšné vzorky čo najskôr po ich rozdelení na spracovanie prístrojom **cobas**® x 480. Nádoby so vzorkou je potrebné uzavrieť novým uzáverom (pozrite časť „**Voliteľné materiály**“) v prípade, ak sa vyžaduje ich ďalšie uskladnenie.
6. Spotrebný materiál vkladajte podľa pokynov softvérového sprievodcu. Nevkladajte ani nevyberajte jednotlivé špičky v čiastočne využitom stojane na špičky, pretože softvér sleduje počet zostávajúcich špičiek. Ak nie je k dispozícii dostatok špičiek na spustenie cyklu, softvér používateľa na túto skutočnosť upozorní.
7. Činidlá na prípravu vzoriek vložte do zásobníkov s činidlami označenými čiarovými kódmi. Zásobníky na činidlá sa dodávajú v dvoch veľkostiach: 200 ml a 50 ml. Pri výbere vhodných veľkostí zásobníka s činidlom postupujte podľa pokynov softvérového sprievodcu. Čiarové kódy zásobníkov s činidlami musia smerovať napravo od nosiča. Počas načítania činidiel na prípravu vzoriek použite metódu postupu „skenovanie – skenovanie – naliatie – vloženie“:
 - Naskenujte čiarový kód fľašky s činidlom
 - Naskenujte čiarový kód zásobníka s činidlom
 - Nalejte činidlo do zásobníka
 - Umiestnite zásobník naplnený činidlom na označené miesto v nosiči činidiel

Poznámka: Systém **cobas**® 4800 má vnútorné hodiny na sledovanie doby vloženia činidiel v zariadení. Po naskenovaní WB je nutné do 1 hodiny dokončiť proces vkladania a kliknúť na tlačidlo „Start“. Na karte „Workplace“ sa zobrazujú odpočítavacie hodiny. Systém neumožní spustiť cyklus v prípade, ak túto dobu prekročíte.

Poznámka: Na zabezpečenie správnosti prenosu MGP fľaštičku s MGP premiešajte alebo dôkladne pretrepte bezprostredne pred dávkovaním do zásobníka s činidlom.

- Amplifikačné/detekčné činidlá (MRSA/SA MMX a Cofactor-1), proteínázu K (PK) a kontrolné vzorky [MRSA/SA (+) C, IC a (-) C] vložte priamo do zásobníkov s činidlami. Aby sa zabránilo kontaminácii, po dokončení manipulácie s pozitívnymi kontrolnými vzorkami sa vyžaduje výmena rukavíc.

Poznámka: Softvérový sprievodca vypočíta optimálny počet a veľkosť objemu použitého činidla cobas® MRSA/SA MMX. Tieto informácie budú uvedené v stĺpci „Kit size“ na obrazovke vkladania činidiel MMX a Co-factor. Ak chcete použiť inú veľkosť činidla cobas® MRSA/SA MMX, kliknite na tlačidlo „Change kit size“.

- Prípravu vzorky začnite kliknutím na položku „Start run“.
 - Po úspešnom dokončení cyklu prípravy vzorky budú k dispozícii tlačidlá „Sample Preparation results“ a „Unload“. Podľa potreby stlačte tlačidlo „Sample Preparation results“ a overte výsledky, a potom stlačte tlačidlo „Unload“ na vytiahnutie nosiča platne. Taktiež môžete stlačiť tlačidlo „Unload“ a vytiahnuť nosič platne bez kontroly výsledkov. Pozrite si používateľskú príručku k systému cobas® 4800.
 - Podľa pokynov v používateľskej príručke k systému cobas® 4800 uzavrite mikrotitračnú platňu, preneste ju do analyzátora cobas® z 480 a spustíte cyklus amplifikácie a detekcie.
- Poznámka: Systém cobas® 4800 má vnútorné hodiny na sledovanie dĺžky času po pridaní pripravených vzoriek do aktivovanej hlavnej zmesi. Amplifikáciu a detekciu je potrebné začať čo najskôr, nie však neskôr ako 90 minút po ukončení cyklu v prístroji cobas® x 480. Na karte „Workplace“ sa zobrazujú odpočítavacie hodiny. Systém zruší cyklus v prípade, ak uplynul čas počítadla.**
- Po ukončení cyklu amplifikácie a detekcie vyberte mikrotitračnú platňu z analyzátora cobas® z 480.
 - Pri kontrole a akceptácii výsledkov postupujte podľa pokynov v používateľskej príručke k systému cobas® 4800.

Výsledky

Kontrola kvality a platnosť výsledkov

Súčasťou každého cyklu je jedna súprava pozitívnej a negatívnej kontrolnej vzorky testu **cobas**® MRSA/SA. V rámci každého cyklu je nevyhnutné získať platné výsledky pozitívnej a negatívnej kontrolnej vzorky na to, aby softvér **cobas**® 4800 zobrazil vykazovateľné výsledky testu **cobas**® MRSA/SA pre daný cyklus.

Pozitívna kontrolná vzorka

Kontrolná vzorka MRSA (+) obsahuje neinfekčné plazmidy DNA MRSA a *Staphylococcus aureus*. Kontrolná vzorka MRSA/SA (+) monitoruje kroky extrakcie, amplifikácie a detekcie nukleovej kyseliny v rámci daného testovacieho cyklu. Výsledok kontrolnej vzorky MRSA/SA (+) musí byť „Valid“. Ak kontrolná vzorka MRSA/SA (+) neustále vykazuje neplatné výsledky, obráťte sa na miestne zastúpenie spoločnosti Roche a požiadajte o technickú pomoc.

Negatívna kontrolná vzorka

Výsledok kontrolnej vzorky (–) musí byť „Valid“. Ak kontrolná vzorka (–) neustále vykazuje neplatné výsledky, obráťte sa na miestne zastúpenie spoločnosti Roche a požiadajte o technickú pomoc.

Vnútorňá kontrolná vzorka

Vnútorňá kontrolná vzorka je molekula bakteriofágu lambda, ktorá obsahuje randomizované sekvencie a ciele pre primery a sondu (špecifické pre vnútorňú kontrolnú vzorku). Vnútorňá kontrolná vzorka sa pridáva do všetkých vzoriek a pozitívnych/negatívnych kontrolných vzoriek počas prípravy vzoriek v prístroji **cobas**® x 480. Vnútorňá kontrolná vzorka monitoruje kroky extrakcie, amplifikácie a detekcie nukleovej kyseliny pre danú vzorku. Vnútorňá kontrolná vzorka sa vyžaduje aj na overenie kontrolných vzoriek cyklu.

Interpretácia výsledkov

Poznámka: Overenie všetkých analýz a cyklov vykonáva softvér cobas® 4800.

Poznámka: Platný (validný) cyklus môže zahŕňať platné aj neplatné výsledky vzoriek.

Pri platnom cykle sa výsledky vzoriek interpretujú v súlade s výsledkami, ktoré uvádza Tabuľka 1.

Tabuľka 1 Interpretácia výsledkov testu cobas® MRSA/SA

Test cobas® MRSA/SA	Hlásenia a interpretácia výsledkov
Požadovaný výsledok „MRSA/SA“	
POS MRSA, POS SA	Pozitívne na MRSA, pozitívne na SA Vzorka je pozitívna na prítomnosť MRSA a SA.
NEG MRSA, NEG SA	Negatívne na MRSA*, negatívne na SA* Možnú prítomnosť MRSA alebo SA nebolo možné detegovať.
NEG MRSA, POS SA	Negatívne na MRSA*, pozitívne na SA Možnú prítomnosť MRSA nebolo možné detegovať. Vzorka je pozitívna na prítomnosť SA.
Invalid MRSA, POS SA	Neplatné MRSA, pozitívne na SA Výsledok MRSA je neplatný. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platný výsledok MRSA. Vzorka je pozitívna na prítomnosť SA.
Invalid MRSA, NEG SA	Neplatné MRSA, negatívne na SA* Výsledok MRSA je neplatný. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platné výsledky MRSA. Možnú prítomnosť SA nebolo možné detegovať.
NEG MRSA, Invalid SA	Negatívne na MRSA*, neplatné SA Možnú prítomnosť MRSA nebolo možné detegovať. Výsledok SA je neplatný. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platný výsledok SA.
Invalid MRSA, Invalid SA	Neplatné MRSA, neplatné SA Výsledky MRSA a SA sú neplatné. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platné výsledky MRSA a SA.
Failed	Žiadne výsledky vzorky Prečítajte si používateľskú príručku k systému cobas® 4800 a zamerajte sa na pokyny týkajúce sa kontroly príznakov cyklu a odporúčané kroky. Ak sa zistil výskyt zrazeniny a k dispozícii máte dostatočný objem, pôvodnú vzorku je potrebné premiešať vo vortexe najmenej po dobu 10 sekúnd a opakovať test, aby sa získali platné výsledky MRSA a SA.

Tabuľka 1 Interpretácia výsledkov testu cobas® MRSA/SA (pokračovanie)

Test cobas® MRSA/SA	Hlásenia a interpretácia výsledkov
Požadovaný výsledok „MRSA“	
POS MRSA	Pozitívne na MRSA Vzorka je pozitívna na prítomnosť MRSA.
NEG MRSA	Negatívne na MRSA* Možnú prítomnosť MRSA nebolo možné detegovať.
Invalid MRSA	Neplatné MRSA Výsledok MRSA je neplatný. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platný výsledok MRSA.
Failed	Žiadne výsledky vzorky Prečítajte si používateľskú príručku k systému cobas® 4800 a zamerajte sa na pokyny týkajúce sa kontroly príznakov cyklu a odporúčané kroky. Ak sa zistil výskyt zrazeniny a k dispozícii máte dostatočný objem, pôvodnú vzorku je potrebné premiešať vo vortexe najmenej po dobu 10 sekúnd a opakovať test, aby sa získali platné výsledky MRSA.
Požadovaný výsledok „SA“	
POS SA	Pozitívne na SA Vzorka je pozitívna na prítomnosť SA.
NEG SA	Negatívne na SA* Možnú prítomnosť SA nebolo možné detegovať.
Invalid SA	Neplatné SA Výsledok SA je neplatný. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platný výsledok SA.
Failed	Žiadne výsledky vzorky Prečítajte si používateľskú príručku k systému cobas® 4800 a zamerajte sa na pokyny týkajúce sa kontroly príznakov cyklu a odporúčané kroky. Ak sa zistil výskyt zrazeniny a k dispozícii máte dostatočný objem, pôvodnú vzorku je potrebné premiešať vo vortexe najmenej po dobu 10 sekúnd a opakovať test, aby sa získali platné výsledky SA.

*Negatívny výsledok nevylučuje prítomnosť MRSA alebo SA, nakoľko výsledky závisia od vhodného odberu vzoriek, absencie inhibítorov a dostatočného objemu DNA na detekciu.

Neplatné výsledky je možné získať vtedy, ak vzorka obsahuje inhibičné látky, ktoré zabraňujú extrakcii a amplifikácii/detekcii cieľovej nukleovej kyseliny. Informácie o známych rušivých látkach nájdete v časti „**Procedurálne obmedzenia**“.

Výsledky typu „Failed“ je možné získať vtedy, ak vzorka obsahuje zrazeniny, ktoré narúšajú postup prípravy vzorky v prístroji **cobas® 4800**.

Zoznam príznakov výsledkov

Nasledujúca tabuľka uvádza príznaky relevantné z hľadiska interpretácie výsledkov.

Tabuľka 2 Zoznam príznakov pre test cobas® MRSA/SA

Test cobas® MRSA/SA	Test cobas® MRSA/SA	Hlásenia a interpretácia výsledkov
R20	Pozitívna kontrola je neplatná.	Externá kontrola je neplatná. 1. Zopakujte celý cyklus s čerstvými reagensmi. 2. Ak problém pretrváva, obráťte sa na servis spoločnosti Roche.
R21	Negatívna kontrola je neplatná.	Externá kontrola je neplatná. 1. Zopakujte celý cyklus s čerstvými reagensmi. 2. Ak problém pretrváva, obráťte sa na servis spoločnosti Roche.
X3	Chyba: Bola detegovaná zrazenina a vzorka nebola spracovaná.	So vzorkami manipulujte podľa opisu pracovného postupu. 1. Skontrolujte, či vzorka neobsahuje zrazeniny. 2. Znova spracujte vzorku.
X4	Chyba: Došlo k chybe pipetovania. Vzorka nebola spracovaná.	Najpravdepodobnejším dôvodom je nedostatočný objem vzorky alebo mechanická chyba počas pipetovania. 1. Overte, či máte k dispozícii dostatočný objem vzorky. 2. Skontrolujte správne umiestnenie platne na vysunutie špičiek. 3. Znova spracujte vzorku.

Kultivácia klinických vzoriek

Na vykonanie testovania antimikrobiálnej citlivosti alebo epidemiologického typovania je možné kultivovať klinické vzorky z odberového média. Pokyny na spracovanie bakteriálnej kultúry nájdete v príbalovom letáku k systému na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek COPAN MSwab.

Poznámka: Minimálny objem vzorky na spustenie jedného testu cobas® MRSA/SA je 700 µl v nádobe s primárnou vzorkou MSwab. Aby sa predišlo krížovej kontaminácii, odporúčame, aby ste primárne skúmavky spracovali v systéme cobas® 4800 pred odberom pomerných častí na bakteriálnu kultiváciu. Ak je nevyhnutné odobrať pomerné časti vzorky na účely kultivácie pred samotným testom cobas® MRSA/SA, dbajte na zachovanie minimálneho objemu vzorky 700 µl a počas manipulácie so vzorkou postupujte mimoriadne opatrne. Testovanie vzoriek s objemom menším ako 700 µl môže viesť k falošne negatívnym výsledkom.

Procedurálne obmedzenia

1. Test **cobas**® MRSA/SA bol schválený iba na používanie s nosovými vzorkami na tampónovej tyčinke odobratými pomocou systému na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab.
2. Spoľahlivosť výsledkov závisí od vhodného odberu vzoriek, prepravy, uchovávaní a spracovania. Postupujte podľa pokynov v tomto návode na použitie (označuje sa aj ako príbalový leták), v príbalovom letáku k systému MSwab na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek a v príslušnej používateľskej príručke pre systém **cobas**® 4800.
3. Detekcia MRSA a SA závisí od počtu organizmov prítomných vo vzorke a môže byť ovplyvnená metódami odberu vzoriek, faktormi pacienta (t. j. fázou kolonizácie, históriou hospitalizácie, režimom antibiotickej liečby, blízkosťou k nosičovi MRSA) a kmeňmi MRSA/SA.
4. Nesprávne negatívne alebo neplatné výsledky môžu byť výsledkom pôsobenia rôznych látok. Vnútorňá kontrolná vzorka je súčasťou testu **cobas**® MRSA/SA ako pomôcka pri identifikácii vzoriek obsahujúcich látky, ktoré môžu narúšať izoláciu nukleovej kyseliny a amplifikáciu PCR. Okrem iných sú známe tieto interferencie:
 - Vzorky, ktoré obsahujú viac než 75 % (v/v) krvi na jednu tampónovú tyčinku, môžu viesť k falošne negatívnym výsledkom. Netestujte vzorky, ktorých farba je tmavočervená alebo hnedá.
 - Vzorky, ktoré obsahujú viac než 10 % (w/v) hlienu na jednu tampónovú tyčinku, môžu viesť k falošne negatívnym výsledkom.
 - Vzorky, ktoré obsahujú viac než 15 % (w/v) nosového gélu Rhinaris® na jednu tampónovú tyčinku, môžu viesť k falošne negatívnym výsledkom.
 - Vzorky, ktoré obsahujú viac než 25 % (v/v) látky Releev na jednu tampónovú tyčinku, môžu viesť k falošne negatívnym výsledkom.
5. Pozitívny výsledok naznačuje prítomnosť DNA MRSA, nie však nevyhnutne prítomnosť živých organizmov. Z tohto dôvodu pozitívny výsledok nevyhnutne neznamená zlyhanie aplikovanej liečby. Negatívny výsledok nasledujúci po predchádzajúcom pozitívnom výsledku testu môže naznačovať úspech eradikačnej liečby alebo môže nastať v dôsledku nepravidelnej kolonizácie.
6. Test **cobas**® MRSA/SA neslúži na priamu detekciu génu *mecA* ani na detekciu proteínu viažuceho sa na penicilín (PBP 2a), ktorý je kódovaný týmto génom. Nesprávny pozitívny výsledok MRSA sa môže vyskytnúť vtedy, ak existuje „variant prázdnej kazety“ bacila *Staphylococcus aureus*.
7. Mutácie alebo polymorfizmy v oblastiach väzby primeru alebo sondy môžu ovplyvňovať detekciu nových alebo neznámych variantov, výsledkom čoho môže byť nesprávny negatívny výsledok analýzy **cobas**® MRSA/SA.
8. Predikatívna hodnota analýzy závisí od výskytu ochorenia v danej konkrétnej populácii.
9. Pridanie enzýmu AmpErase do hlavnej zmesi **cobas**® 4800 MRSA/SA umožňuje vykonať selektívnu amplifikáciu cieľovej DNA; je však potrebné pripomenúť, že správna laboratórna prax a dodržiavanie procedúr uvedených v tomto návode na použitie sú nevyhnutne dôležité, aby sa predišlo kontaminácii činidiel a amplifikačných zmesí.
10. Tento produkt môže používať len personál zaškolený v technikách PCR a použití systému **cobas**® 4800.
11. Na použitie s týmto výrobkom boli schválené len prístroj **cobas**® x 480 a analyzátor **cobas**® z 480. Iný prístroj na prípravu vzoriek ani PCR systém sa s týmto výrobkom nemôžu použiť.

12. V dôsledku základných odlišností medzi technológiami sa odporúča, aby používatelia pred zmenou technológie v laboratóriu vykonali štúdie korelácie metód a vyhodnotili technologické rozdiely. Kvôli hore uvedeným rozdielom v technológiách sa nemá očakávať stopercentná zhoda výsledkov.
13. Krížová kontaminácia môže spôsobiť nesprávne pozitívne výsledky. Miera výskytu krížovej kontaminácie medzi vzorkami v rámci testu **cobas**® MRSA/SA v systéme **cobas**® 4800 bola v rámci neklinickej štúdie stanovená na 0 %. Krížová kontaminácia medzi jednotlivými cyklami nebola zistená.

Hodnotenie neklinickej účinnosti

Analytická citlivosť

Analytická citlivosť (detekčný limit alebo LoD) testu **cobas**® MRSA/SA bola stanovená formou analýzy kvantifikovaných kultivačných izolátov MRSA a SA na viacerých úrovniach s najmenej 61 opakovaniami v jednej úrovni. Testovacie vzorky boli pripravené naočkovaním kultúry do tampónovej tyčinky FLOQ a inkubáciou tampónovej tyčinky v simulovanej matrici nosovej tampónovej tyčinky. Simulovaná matrica sa skladala zo simulačnej schémy hlienu a ľudských buniek s napodobnením vplyvu pozadia klinickej nosovej vzorky v teste **cobas**® MRSA/SA. Všetky členy panela boli testované použitím testu **cobas**® MRSA/SA a troch šarží činidiel testu **cobas**® MRSA/SA. LoD je pre tento test definovaný ako cieľová koncentrácia, ktorú je možné detegovať ako pozitívnu vo ≥ 95 % testovaných replikátov na základe výsledkov najmenej účinnej šarže činidla.

V rámci štúdie analytickej citlivosti boli testované dva izoláty MRSA a jeden izolát SA. LoD testu **cobas**® MRSA/SA v rámci uvedených izolátov uvádza Tabuľka 3.

Tabuľka 3 Detekčný limit (LoD) testu **cobas**® MRSA/SA

Orga-nizmus	Pôvod	ID pôvodu	Typ RE	Typ SCCmec	Typ spa	PFGE	Hodnota MIC	Testované hladiny	LoD (CFU/tampónová tyčinka)
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 = Netýka sa

Detekcia genotypov MRSA a SA

Limity detekcie testu **cobas**® MRSA/SA na 35 izolátoch MRSA a piatich izolátoch SA predstavujú bežné genotypy (vrátane typov RE 1, 2, 3, 4, 6, typov MRSA SCCmec I, II, III, IV, V, VI a VIII a typov MRSA v gélovej elektroforéze impulzového poľa (PFGE) USA 100 až 1000) a boli overené testovaním 40 replikátov v rámci jednej úrovne pri testovaní na viacerých úrovniach. Genetická rôznorodosť MRSA/SA v rámci tohto odberu zahŕňa rôzne typy SCCmec, MREJ a spa (nájdene na vzorkách *Staphylococcus aureus* na základe fylogenetickej štruktúry) a reprezentatívne kmene rôznych typov PFGE. Riedenia a vzorky na testovanie boli pripravené podobným spôsobom ako v rámci štúdie detekčného limitu (LoD) opísanej predtým. Súhrn informácií o najnižšej úrovni s pozorovanou mierou úspešnosti najmenej 95 % je uvádzaný v Tabuľka 4 a Tabuľka 5. Výsledky preukázali, že test **cobas**® MRSA/SA zisťuje správne všetkých 35 kmeňov MRSA a všetkých päť kmeňov SA s LoD v rozsahu 175 až 750 CFU/tampónovú tyčinku. Zistené kmene predstavujú minimálne osem typov SCCmec (I, II, III, IV, V, VI, VIII a nový), 10 typov MREJ, 21 typov spa, deväť typov PFGE a hodnoty cefoxitínu MIC od 8 po viac než 32.

Tabuľka 4 Detekčný limit (LoD) testu cobas® MRSA/SA na genotypoch MRSA

Izolát MRSA č.	Typ RE	Typ SCCmec	Typ spa	Hodnota MIC	Typ PFGE	LoD (CFU/tampónová tyčinka)
1	11	nový	t002	> 32	Neznámy	485
2	6	II	t242	> 32	Neznámy	720
3	9/11	nový	t024	16	Neznámy	175
4	14	Neznámy	Neznámy	Neznámy	Neznámy	700
5	25	Neznámy	t003	> 32	Neznámy	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	Iberian	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	nový	t476	8	Neznámy	350
31	1	I	t149	> 32	Neznámy	175
32	3	VIII	Neznámy	16	Neznámy	700
33	4	IV	Neznámy	12	Neznámy	350
34	2	III	t030	> 32	Neznámy	700
35	25	VI	Neznámy	Neznámy	Neznámy	175

Tabuľka 5 Detekčný limit (LoD) testu cobas® MRSA/SA na genotypoch SA

Izolát SA č.	Typ spa	LoD (CFU/tampónová tyčinka)
1	t238	175
2	t018	175
3	t008	175
4	t002	175
5	t088	175

Zemepisná inkluzívnosť

Okrem 37 izolátov MRSA a šiestich izolátov SA zahrnutých v analytických štúdiách citlivosti a genotypovej inkluzívnosti uvádzaných hore, bolo testovaných 281 izolátov MRSA a 85 izolátov SA odobratých na rôznych zemepisných miestach; tie boli testované pri koncentráciách blízko limitnej hodnoty detekcie testu cobas® MRSA/SA. Odber 281 izolátov MRSA zo 16 krajín obsahoval izoláty MRSA rôznych typov SCCmec (I, II, III, IV, IVa, V, VI, VII a nový), 71 spa typov a hodnoty cefoxitínu MIC od 6 po viac než 256. Odber 85 izolátov SA zo zemepisne odlišných miest v rámci USA obsahoval izoláty SA 75 rôznych typov spa. Test cobas® MRSA/SA zistil všetkých 85 izolátov SA. Z 281 izolátov MRSA bolo zistených 277. Štyri izoláty MRSA, ktoré test cobas® MRSA/SA nezistil, boli zaradené do sekvencie a výsledky odporúčali, že sekvencie obsahujúce cieľový región neboli rozpoznané prímernými a sondami v teste cobas® MRSA/SA. Jeden zo štyroch izolátov bol kmeň ALGA251 (taktiež známy ako mec C). Zemepisné zdroje odberu MRSA sú uvedené v Tabuľka 6.

Tabuľka 6 Zemepisná inkluzívnosť testu cobas® MRSA/SA

Zemepisný pôvod	Celkový počet izolátov MRSA	Detegované pomocou testu cobas® MRSA/SA
Spojené kráľovstvo	58	58
Nemecko	51	51
Dánsko	37	36
Francúzsko	33	31
Spojené štáty	20	20
Španielsko	20	20
Švajčiarsko	18	18
Japonsko	15	15
Švédsko	7	7
Austrália	6	5
Holandsko	5	5
Taliansko	4	4
Belgicko	3	3
Škótsko	2	2
Írsko	1	1
Nórsko	1	1
Celkom	281	277

Presnosť

Interná štúdia presnosti bola realizovaná s dvoma izolátmi MRSA a jedným izolátom SA, ktoré boli zriedené v simulovanej matrici nosovej vzorky na tampónovej tyčinke na koncentrácie pod detekčným limitom (LoD), blízke sa LoD a vyššie než LoD testu cobas® MRSA/SA. Testovaná bola aj negatívna úroveň skladajúca sa iba zo simulovanej matrice nosovej vzorky na tampónovej tyčinke. V štúdiu boli použité tri jedinečné šarže činidiel cobas® MRSA/SA a použili sa tri prístroje (celkom sa uskutočnilo 36 cyklov v priebehu 12 dní). Popis panelov presnosti a informácie o miere úspešnosti štúdie uvádza Tabuľka 7. Analýza odchýlky hodnôt Ct od testov vykonaných s pozitívnymi členmi panela nad úrovňou LoD (Tabuľka 8 a Tabuľka 9) vykázala celkovo CV (%) rozsahy od 0,8 % do 1,3 % pre MRSA Ct a 1,2 % pre SA Ct.

Tabuľka 7 Analýza miery úspešnosti v rámci internej štúdie presnosti

Člen panela	Izolovaná látka	Cieľová koncentrácia	Počet vzoriek	Počet pozitívnych výsledkov	Miera úspešnosti	95 % CI	
						Dolný	Horný
1	NRS164 (SA)	< 1 × LoD	71	67	94,4 %	86,2 %	98,4 %
2	NRS164 (SA)	~ 1 × LoD	72	72	100,0 %	95,0 %	100,0 %
3	NRS164 (SA)	~ 3 × LoD	72	72	100,0 %	95,0 %	100,0 %
4	NRS384 (MRSA)	< 1 × LoD	72	57	79,2 %	68,0 %	87,8 %
5	NRS384 (MRSA)	~ 1 × LoD	72	72	100,0 %	95,0 %	100,0 %
6	NRS384 (MRSA)	~ 3 × LoD	72	72	100,0 %	95,0 %	100,0 %
7	ATCC43300 (MRSA)	< 1 × LoD	72	63	87,5 %	77,6 %	94,1 %
8	ATCC43300 (MRSA)	~ 1 × LoD	72	72	100,0 %	95,0 %	100,0 %
9	ATCC43300 (MRSA)	~ 3 × LoD	72	72	100,0 %	95,0 %	100,0 %
10	Žiadne	Negatívne	72	0	0,0 %	0,0 %	5,0 %

Tabuľka 8 Analýza súčastí odchýlky pre členov panela presnosti nad LoD

Kmeň	Priem. Ct	Komponenty odchýlky/percento podielu na celkových výsledkoch					Celkom
		Šarža	Veľkosť súpravy	Prístroj	Testovací cyklus	Náhodné	
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 %

Tabuľka 9 Analýza štandardných odchýlok a koeficientov variácie (%) pre členov panela presnosti nad LoD

Kmeň	Priem. Ct	SD komponentov/CV (%)					Celkom
		Šarža	Veľkosť súpravy	Prístroj	Testovací cyklus	Náhodné	
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 %

Kompetitívna inhibícia

Panely sa skladali z dvoch izolátov MRSA ako cieľov pri 3-násobku detekčného limitu (LoD) testu cobas® MRSA/SA a z kompetitívnych izolátov *Staphylococcus aureus* a metilín-rezistentných *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) izolátov so zvyšujúcimi sa koncentráciami. Zvyšujúca sa koncentrácia SA alebo MRSE neovplyvnila detekciu cieľov MRSA/SA; zistené na základe príslušnej relatívne stabilnej hodnoty Ct (Tabuľka 10).

Tabuľka 10 Štúdia kompetitívnej inhibície MRSA baktériou SA (hodnoty Ct)

Kompetitívny organizmus (koncentrácia)	Cieľ		
	MRSA 10364	MRSA 8065	SA 10851
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (1 × cieľ)	38,2	38,8	nedostupné
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (100 × cieľ)	38,1	39,1	nedostupné
<i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (10000 × cieľ)	38,4	38,8	nedostupné
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (1 × cieľ)	38,1	39,0	nedostupné
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (100 × cieľ)	38,5	39,3	nedostupné
<i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (10000 × cieľ)	37,4	39,0	nedostupné
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (1 x cieľ)	37,9	39,5	36,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (100 x cieľ)	38,6	38,6	36,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (10000 x cieľ)	38,1	39,7	37,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (1 x cieľ)	39,0	40,1	36,9
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (100 x cieľ)	38,4	39,1	36,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (10000 x cieľ)	38,3	39,7	36,7

Analytická špecifickosť

Na hodnotenie analytickej špecifickosti testu **cobas**® MRSA/SA boli testované nasledujúce panely:

1) 92 baktérií, plesní a vírusov, ktoré možno bežne nájsť v nosových vzorkách na tampónovej tyčinke (Tabuľka 11); 2) ľudské bunky (Tabuľka 11); 3) 43 koagulázne negatívnych organizmov *Staphylococcus* (CoNS) a meticilín-rezistentných koagulázovo negatívnych *Staphylococcus* (MR-CoNS) (Tabuľka 12); 4) 10 izolátov SA (BORSA) hranične rezistentných na meticilín a dva izoláty SA iba na zistenie špecifickosti MRSA (Tabuľka 13).

Všetky baktérie a ľudské bunky boli naočkované na koncentráciu 1×10^6 jednotiek*/ml alebo vyššiu okrem *Chlamydia pneumoniae* a všetky vírusy boli naočkované na najvyššiu koncentráciu povolenú príslušnými kmeňmi (1×10^5 jednotiek*/ml okrem adenovírusu 1 a chrípky A/H1N1). Testovanie sa uskutočnilo so samotnými organizmami alebo s dvoma izolátmi MRSA a jedným izolátom SA s hodnotou 3-násobku detekčného limitu (LoD) testu **cobas**® MRSA/SA. Výsledky uvádzajú, že žiadny z týchto organizmov nenarušal detekciu zamýšľaných cieľov MRSA alebo SA. Žiadne z nich nevedli k falošne pozitívnym výsledkom v prípade, keď nebol prítomný zamýšľaný cieľ MRSA/SA.

* Všetky baktérie boli kvantifikované ako jednotky tvoriace kolóniu (CFU) okrem baktérie *Chlamydia pneumoniae*, ktorá bola kvantifikovaná ako kópie DNA. Ľudský metapneumovírus bol kvalifikovaný ako vírusové častice. Adenovírus 1, 7 a 40, ľudský enterovírus, HSV1, vírus chrípky A/H3N2A/Hong Kong/8/68, vírus osýpok, vírus mumpsu, parainfluenza 1, parainfluenza 2 a parainfluenza 3, vírus Corona 229E, vírus Corona OC43, cytomegalovírus a rinovírus boli všetky kvantifikované v jednotke vytvárajúcej povlak (PFU). RSV A a RSV B boli kvantifikované v jednotkách TCID₅₀. Chrípka A/H1N1 a chrípka B boli kvantifikované v jednotkách EID₅₀. EBV bolo kvantifikované v kópiách.

Tabuľka 11 Mikroorganizmy, ktoré sa bežne vyskytujú v nosovej flóre, testované na analytickú špecifickosť

<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> (produkujúca KPC) ATCC # 700603	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (produkujúca KPC) 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>	Adenovírus 40
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Microbacterium testaceum</i>	Coronavirus 229E
<i>Chlamydia pneumoniae</i> *	<i>Micrococcus luteus</i>	Coronavirus OC43
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Cytomegalovírus
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis avirulent</i>	Vírus Epstein-Barovej
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	HSV 1
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Mycoplasma salivarium</i>	Ľudský adenovírus typ 1*
<i>Corynebacterium flavescens</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	Ľudský adenovírus typ 7A
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Parvimonas micra</i>	Ľudský enterovírus 71
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Pasteurella aerogenes</i>	Ľudský metapneumovírus
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Planococcus maritimus</i>	Chrípka A/H1N1
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Chrípka A/H3N2 A/ Hong Kong/8/68
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	Vírus chrípky typu B
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Providencia stuartii</i>	Vírus osýpok
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Vírus mumpsu
<i>Enterococcus flavescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Parainfluenza 1
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Rhodococcus equi</i>	Parainfluenza 2
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Rothia mucilaginosa</i>	Parainfluenza 3
<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica subsp. Enterica</i>	Rhinovírus typ 1A
<i>Fingoldia magna</i>	<i>Serratia marcescens</i>	RSV A
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Shigella sonnei</i>	RSV B
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Bunky HCT-15 (ľudská genomická DNA)

* *Chlamydia pneumoniae* bola testovaná na $1,0 \times 10^5$ kópií/ml a adenovírus typ 1 na $1,0 \times 10^4$ PFU/ml.

Tabuľka 12 Úzko súvisiace organizmy CoNS a MR-CoNS testované na špecifickosť

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

Tabuľka 13 Izoláty SA a BORSA testované na špecifickosť MRSA

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

Interferencia

25 bežne používaných nosových liekov alebo liekov používaných na liečbu hrdla, ako aj celá krv a hlien, boli testované na potenciálnu interferenciu s testom **cobas**® MRSA/SA. Všetky látky boli testované na úrovniach uvádzaných vyššie (predpokladá sa, že tieto úrovne by sa bežne nachádzali v nosových vzorkách odobratých pomocou tampónovej tyčinky). Množstvo rušivej látky je vyjadrené ako percento maximálneho množstva, ktoré tampónová tyčinka dokáže absorbovať alebo preniesť. Dva izoláty MRSA a jeden izolát SA boli naočkované na úrovni 3-násobku detekčného limitu (LoD) testu **cobas**® MRSA/SA a použili sa v rámci testov ako ciele. Nebola pozorovaná žiadna interferencia do hodnoty 100 % kapacity tampónovej tyčinky vzhľadom na exogénne látky okrem prípravku Relenza® (žiadna interferencia až do 6,25 % kapacity tampónovej vzorky), nosového gélu Rhinaris® (žiadna interferencia až do 15 % kapacity tampónovej tyčinky) a Releev (žiadna interferencia až do 25 % kapacity tampónovej tyčinky). Pamätajte, že prípravok Relenza® bol testovaný iba do 6,25 % kapacity tampónovej tyčinky, pretože táto hodnota predstavuje celý objem normálnej dávky lieku v súlade s predpisom. Pokiaľ ide o celú krv, nebola pozorovaná žiadna interferencia až do 75 % kapacity tampónovej tyčinky a v prípade hlienu nebola pozorovaná žiadna interferencia až do 10 % kapacity tampónovej tyčinky. Súhrn týchto výsledkov uvádza Tabuľka 14.

Tabuľka 14 Výsledky testovania rušivých látok

Látka	Výsledky
Celá krv	Žiadna interferencia až do 75 % kapacity tampónovej tyčinky
Hlien	Žiadna interferencia až do 10 % kapacity tampónovej tyčinky
Nosový sprej Afrin	Žiadna interferencia
Nosový sprej Beconase	Žiadna interferencia
Nosová masť Bepanthen®	Žiadna interferencia
Tabletky Chloraseptic Max Sore Throat Lozenges	Žiadna interferencia
Nosový sprej Fluticasone Propionate (50 mcg)	Žiadna interferencia
FluMist® (Afluria, vakcína s vírusom chrípky)	Žiadna interferencia
Nosový roztok Flunisolide USP, 0,025 %	Žiadna interferencia
Masť Mupirocin	Žiadna interferencia
Nosový sprej Dristan™	Žiadna interferencia
Luffeel™	Žiadna interferencia
Nosový sprej Triamcinolone Acetonide	Žiadna interferencia
Nosový sprej NasalCrom	Žiadna interferencia
Nosový sprej Nasonex	Žiadna interferencia
Neo-Synephrine	Žiadna interferencia
Nosový sprej Otrivine	Žiadna interferencia
Relenza®	Žiadna interferencia až do 6,25 % kapacity tampónovej tyčinky*
Suspenzia na inhaláciu Budesonide 0,25 mg/2 ml	Žiadna interferencia
Nosový roztok Azelastin HCl	Žiadna interferencia
Nosový zvlhčujúci sprej Equate Saline	Žiadna interferencia
Nosový gél Rhinaris®	Žiadna interferencia až do 15 % kapacity tampónovej tyčinky
Očný roztok tobramycínu a dexametazónu	Žiadna interferencia
Releev (na opary)	Žiadna interferencia až do 25 % kapacity tampónovej tyčinky
Nosový gél Zicam	Žiadna interferencia
Inhalačný aerosól QVAR (40 mcg)	Žiadna interferencia
Nostrilla	Žiadna interferencia

* Táto koncentrácia predstavuje celý objem produktu Relenza®, ktorý by sa v súlade s predpisom aplikoval v rámci jedného použitia.

Klinická účinnosť na základe klinických vzoriek

Účinnosť testu **cobas**® MRSA/SA bola porovnaná so špičkovým komparátorom NAT (so schválením úradom FDA a označením CE) použitím kombinovanej priamej/obohatenej bakteriálnej kultúry ako referenčnej metódy. Od každého pacienta zaradeného do štúdie boli odobraté dve nosové vzorky na tampónovej tyčinke. Vzorka na testovanie pomocou testu **cobas**® MRSA/SA bola odobratá pomocou systému MSwab na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek a vzorka na test komparátora bola odobratá pomocou tekutej Stuartovej pôdy. Vzorka MSwab bola použitá na očkovanie jednej platne každého selektívneho a diferenčného chromogénneho média pre MRSA a SA (priama kultivácia), ako aj skúmavky obsahujúcej tryptikázovo-sójový bujón (TSB) s obsahom 6,5 % NaCl na obohatenie cez noc (obohatená kultúra). Obohatená kultúra bola umiestnená na chromogénne médium. Predpokladané SA-pozitívne kolónie na chromogénnych platniach boli overené pomocou testu aglutinácie latexu (Staphraurex®, Remel Microbiology Products, Thermo Scientific, Inc.). Predpokladané kolónie MRSA boli ďalej overené pomocou testu difúzie cefoxitínového disku.

Celkový počet zaregistrovaných jedincov bol 383 z dvoch lokalít v rámci EÚ. Štyria jednotlivci boli vyradení v dôsledku neúplných výsledkov niektorého z testov. Prostredníctvom režimu kombinovanej priamej/obohatenej kultúry bolo 27 vzoriek pozitívnych na MRSA a 144 vzoriek bolo pozitívnych na SA (výskyt: MRSA 7,1 %, SA 38,0 %). Účinnosť testu **cobas**® MRSA/SA a komparátora NAT v porovnaní s priamou kultiváciou uvádza Tabuľka 15.

Tabuľka 15 Porovnanie testu **cobas**® MRSA/SA a testu komparátora nukleovej kyseliny (NAT) s priamou kultiváciou

MRSA		Priama kultivácia	
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky
Test cobas ® MRSA/SA	Pozitívne vzorky	15	18
	Negatívne vzorky	1	345
Citlivosť	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL
		94 %	100 %
Špecifickosť		92 %	97 %

SA		Priama kultivácia	
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky
Test cobas ® MRSA/SA	Pozitívne vzorky	121	29
	Negatívne vzorky	5	224
Citlivosť	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL
		96 %	99 %
Špecifickosť		84 %	92 %

MRSA		Priama kultivácia	
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky
Komparátor NAT	Pozitívne vzorky	14	16
	Negatívne vzorky	2	347
Citlivosť	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL
		88 %	98 %
Špecifickosť		93 %	97 %

SA		Priama kultivácia	
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky
Komparátor NAT	Pozitívne vzorky	122	31
	Negatívne vzorky	4	222
Citlivosť	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL
		97 %	99 %
Špecifickosť		83 %	92 %

Účinnosť testu **cobas**® MRSA/SA a komparátora NAT v porovnaní s priamou kultiváciou/obohatenou kultiváciou uvádza Tabuľka 16. V rámci tejto analýzy sa pozitívny výsledok získaný priamou alebo obohatenou kultiváciou považuje za pozitívny. Negatívny výsledok je možné získať iba vtedy, ak sú negatívne výsledky priamej kultivácie a zároveň aj obohatenej kultivácie.

Tabuľka 16 Porovnanie testu **cobas**® MRSA/SA MRSA/SA a testu komparátora nukleovej kyseliny (NAT) s priamou/obohatenou kultiváciou

MRSA		Priama/obohatená kultivácia	
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky
Test cobas® MRSA/SA	Pozitívne vzorky	25	8
	Negatívne vzorky	2	344
Citlivosť	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL
		93 %	99 %
Špecifickosť		96 %	99 %

SA		Priama/obohatená kultivácia	
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky
Test cobas® MRSA/SA	Pozitívne vzorky	137	13
	Negatívne vzorky	7	222
Citlivosť	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL
		95 %	98 %
Špecifickosť		91 %	97 %

MRSA		Priama/obohatená kultivácia	
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky
Komparátor NAT	Pozitívne vzorky	24	6
	Negatívne vzorky	3	346
Citlivosť	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL
		89 %	98 %
Špecifickosť		96 %	99 %
NPV		98 %	100 %
PPV		61 %	92 %

SA		Priama/obohatená kultivácia	
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky
Komparátor NAT	Pozitívne vzorky	138	15
	Negatívne vzorky	6	220
Citlivosť	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL
		96 %	98 %
Špecifickosť		90 %	96 %
NPV		94 %	99 %
PPV		84 %	94 %

Účinnosť testu **cobas**® MRSA/SA v priamom porovnaní s komparátorom NAT (s povolením úradom FDA a s označením CE) uvádza Tabuľka 17.

Tabuľka 17 Porovnanie testu **cobas**® MRSA/SA a testu komparátora nukleovej kyseliny (NAT)

MRSA		Komparátor NAT		SA		Komparátor NAT	
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky			Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky
Test cobas ® MRSA/SA	Pozitívne vzorky	28	5	Test cobas ® MRSA/SA	Pozitívne vzorky	144	6
	Negatívne vzorky	2	344		Negatívne vzorky	9	220
Percento pozitívnej zhody	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL	Percento pozitívnej zhody	Odhad	95 % CI LL	95 % CI UL
	93 %	78 %	99 %		94 %	89 %	97 %
	Percento negatívnej zhody	99 %	97 %		100 %	Percento negatívnej zhody	97 %

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť testu **cobas**® MRSA/SA v systéme **cobas**® 4800 sa stanovila v rámci vyšetrenia na viacerých pracoviskách použitím umelo pripravených klinických vzoriek, ktoré sa hodnotili podľa šarže, pracoviska/nástroja, operátora, dňa a cyklu.

Panely testu reprodukovateľnosti MRSA/SA boli pripravené naočkovaním kmeňov MRSA NRS384 (MRSA-384) a ATCC 43300 (MRSA-43300) alebo kmeňa SA RMSCC 10851 do matrice umelo pripravených vzoriek (simulované klinické vzorky MSwab z nosa s mucínom a ľudskými epitelovými bunkami) v jednej z troch koncentrácií (pod LoD, 1 × LoD a 3 × LoD); MRSA/SA-negatívny prvok panela bol zahrnutý ako kontrola prvku panela. Celkovo bolo v každom testovacom paneli 10 prvkov s 3 opakovaniami na každom prvku panela v každom cykle. Panely sa testovali na 3 pracoviskách 2 operátormi na každé pracovisko s 1 cyklom na operátora denne, počas 5 dní na jednu šaržu, v rámci 2 šarží, spolu 1 800 testov (180 testov/prvok panela alebo 90 testov/prvok panela/šarža). Celkovo sa vykonalo 60 cyklov a všetky boli platné. Neexistovali žiadne neúspešné/neplatné testy.

Výsledky reprodukovateľnosti MRSA

Tabuľka 18 sumarizuje výsledky reprodukovateľnosti MRSA pre hodnoty Ct a percentuálnu zhodu (obojsmerný presný 95 % CI) podľa pracoviska a prvku panela. Pozitívna percentuálna zhoda pre MRSA-pozitívne prvky panela „Pod LoD MRSA-384“ a „Pod LoD MRSA-43300“ bola 85,6 % (95 % CI: 79,6 % až 90,3 %), resp. 87,2 % (95 % CI: 81,4 % až 91,7 %); pozitívna percentuálna zhoda pre všetky ostatné MRSA-pozitívne prvky panela bola 100,0 % (95 % CI: 98,0 % až 100,0 %). Celkové SD a celkové CV (%) hodnôt Ct všetkých prvkov panela s MRSA-pozitívnymi nálezmi boli $\leq 0,51$ % a $\leq 1,4$ %.

Tabuľka 18 Súhrn výsledkov reprodukovateľnosti MRSA – hodnoty Ct a percentuálna zhoda podľa pracoviska a prvku panela

Prvok panela	Platné výsledky testu (n)	Ct			Percentuálna zhoda podľa pracoviska (n/N) ^a			Celková zhoda	
		Stredná hodnota	SD	CV (%)	1	2	3	Percento (n/N)	(95 % CI) ^b
Negatívne	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 %)
Pod 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 %)
Pod 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 Pri negatívnych prvkoch panela, percentuálna zhoda = (počet negatívnych výsledkov ÷ celkové platné výsledky) × 100; pri pozitívnych prvkoch panela, percentuálna zhoda = (počet pozitívnych výsledkov ÷ celkové platné výsledky) × 100.

^b 95 % CI = obojsmerný 95 % presný binomický interval spoľahlivosti.

CI = interval spoľahlivosti; Ct = prah cyklu; CV = variačný koeficient; LoD = detekčný limit; MRSA = metilín-rezistentný *Staphylococcus aureus*; MRSA-384 = metilín-rezistentný kmeň *Staphylococcus aureus* NRS384; MRSA-43300 = metilín-rezistentný kmeň *Staphylococcus aureus* ATCC 43300; N/A = nepoužiteľné; SA = *Staphylococcus aureus*.

Tabuľka 19 uvádza SD a CV (%) hodnôt Ct pre MRSA-pozitívne prvky panela celkovo a v závislosti od šarže, pracoviska/nástroja, operátora, dňa a v rámci cyklu.

Tabuľka 19 Celkový priemer, štandardné odchýlky a koeficienty variácie (%) pre hodnoty Ct podľa platných výsledkov pre pozitívne prvky panela – MRSA

MRSA			Štandardná odchýlka a percentuálny koeficient variácie											
			Šarža		Prac./nás.		Operátor		Deň		V rámci cyklu		Celkom	
Prvok panela	N	Priem. Ct	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
Pod 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 %
Pod 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 = prah cyklu; CV = variačný koeficient; nás. = nástroj; LoD = detekčný limit; MRSA = metilín-rezistentný *Staphylococcus aureus*; MRSA-384 = metilín-rezistentný kmeň *Staphylococcus aureus* NRS384; MRSA-43300 = metilín-rezistentný kmeň *Staphylococcus aureus* ATCC 43300; SD = štandardná odchýlka.

Výsledky reprodukovateľnosti SA

Tabuľka 20 sumarizuje výsledky reprodukovateľnosti SA pre hodnoty Ct a percentuálnu zhodu (obojsmerný presný 95 % CI) podľa pracoviska a prvku panela. Pozitívna percentuálna zhoda pre prvky panela s pozitívnym výsledkom SA „Pod LoD SA“, „1 × LoD SA“ a „3 × LoD SA“ bola 50,0 % (95 % CI: 42,5 % až 57,5 %), 99,4 % (95 % CI: 96,9 % až 100,0 %) a 100,0 % (95 % CI: 98,0 % až 100,0 %). Celkové SD a celkové CV (%) hodnôt Ct všetkých prvkov panela so SA-pozitívnymi nálezmi boli ≤ 0,49 % a ≤ 1,3 %. Negatívna percentuálna zhoda pre MRSA/SA-negatívne prvky panela bola 100,0 % (95 % CI: 98,0 % až 100,0 %).

Tabuľka 20 Súhrn výsledkov reprodukovateľnosti SA – hodnoty Ct a percentuálna zhoda podľa pracoviska a prvku panela

Prvok panela	Platné výsledky testu (n)	Ct			Percentuálna zhoda podľa pracoviska (n/N) ^a			Celková zhoda	
		Stredná hodnota	SD	CV (%)	1	2	3	Percento (n/N)	(95 % CI) ^b
Negatívne	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 %)
Pod 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 Pri negatívnych prvkoch panela, percentuálna zhoda = (počet negatívnych výsledkov ÷ celkové platné výsledky) × 100;
pri pozitívnych prvkoch panela, percentuálna zhoda = (počet pozitívnych výsledkov ÷ celkové platné výsledky) × 100.

^b 95 % CI = obojstranný 95 % presný binomický interval spoľahlivosti.

CI = interval spoľahlivosti; Ct = prah cyklu; CV = variačný koeficient; LoD = detekčný limit; N/A = nepoužiteľné;
SA = *Staphylococcus aureus*.

Tabuľka 21 uvádza SD a CV (%) hodnôt Ct pre SA-pozitívne prvky panela celkovo a v závislosti od šarže, pracoviska/nástroja, operátora, dňa a v rámci cyklu.

Tabuľka 21 Celkový priemer, štandardné odchýlky a koeficienty variácie (%) pre hodnoty Ct podľa platných výsledkov pre pozitívne prvky panela – SA

SA			Štandardná odchýlka a percentuálny koeficient variácie											
			Šarža		Prac./nás.		Operátor		Deň		V rámci cyklu		Celkom	
Prvok panela	N	Priem. Ct	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
Pod 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 = prah cyklu; CV = variačný koeficient; LoD = detekčný limit; SA = *Staphylococcus aureus*; SD = štandardná odchýlka.

Klinická účinnosť

Klinická účinnosť testu **cobas**® MRSA/SA bola stanovená v rámci prospektívneho výskumu schváleného IRB na viacerých pracoviskách, v ktorom sa porovnávali výsledky s priamou chromogénnou kultiváciou a priamou chromogénnou kultiváciou v kombinácii s obohatenou kultiváciou, pričom sa použili výtery z nosa od vhodných osôb mužského a ženského pohlavia.

Vzorky boli odobraté na šiestich geograficky rôznych pracoviskách v USA. Od každého účastníka boli odobraté jedna alebo dve vzorky výteru; jeden výter bol odobratý na testovanie štandardnej starostlivosti (ak sa uplatňuje) a jeden výter, MSwab (Copan Flock Technologies Srl., Brescia, Taliansko), bol odobratý na test **cobas**® MRSA/SA a na priamu a obohatenú kultiváciu.

Test **cobas**® MRSA/SA sa vykonal na troch pracoviskách a priama a obohatená kultivácia sa vykonali v referenčnom laboratóriu, ktoré sa špecializuje na kultiváciu a molekulárnu detekciu meticilín-rezistentných MRSA a SA. Stručne povedané, 100 µl alikvotná časť vzorky MSwab od každého účastníka sa preniesla priamo na jednu platničku selektívneho a diferenciálneho chromogénneho média pre MRSA a SA (priama kultivácia) a do skúmavky obsahujúcej tryptón-sójový bujón (TSB) so 6,5 % NaCl (obohatená kultivácia). Podozrivé izoláty a pozitívne obohatené bujónové kultúry sa subkultúrovali na 5 % agar z ovčej krvi a izoláty sa identifikovali ako SA pomocou Gramovho farbenia a latexového aglutinačného testu. Predpokladané izoláty MRSA sa potvrdili pomocou Kirby-Bauerovho cefoxitínového diskového difúzneho testu na rezistenciu voči meticilínu.

Vzorka kultúry pozitívna na MRSA/SA bola definovaná buď priamou, alebo obohatenou kultivačnou technikou. Vzorka kultúry negatívna na MRSA/SA bola definovaná pomocou priamej aj obohatenej kultivácie.

Diskrepančná analýza sa vykonala na všetkých vzorkách s nesúhlasnými výsledkami a náhodne vybranej podskupine vzoriek so súhlasnými výsledkami, ktoré boli zahrnuté ako kontroly, medzi testom **cobas**® MRSA/SA a kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou, pomocou druhého, FDA schváleného testu amplifikácie nukleovej kyseliny (*Nucleic Acid Amplification Test*, NAAT) a neselektívnej priamej a obohatenej kultivácie. Stručne povedané, 100 µl alikvotná časť zvyšnej (zostávajúcej) vzorky MSwab bola prenesená na čokoládovú agarovú platničku (neselektívna priama kultivácia) a druhá 100 µl alikvotná časť bola prenesená na TSB bez NaCl (neselektívna obohatená kultivácia). Izoláty získané z neselektívnej priamej a obohatenej kultivácie sa charakterizovali podľa opisu; okrem toho sa identifikácia podozrivých, atypických izolátov potvrdila pomocou laboratórne vyvinutého PCR testu na gény *femA* a *mecA* podľa zavedeného postupu referenčného laboratória.

Výsledky

Vzorky boli odobraté od 2 528 účastníkov, pričom 2 504 (99,1 %) vyhodnotiteľných výsledkov bolo od 1 372 mužov (54,8 %) a 1 132 (45,2 %) žien. Väčšina účastníkov mala > 50 rokov (67,2 %) a ich vek sa pohyboval od 18 do 101 rokov (medián veku = 57 rokov). Celkovo bolo 160 vzoriek pozitívnych na MRSA a 660 vzoriek pozitívnych na SA.

Účinnosť testu **cobas**® MRSA/SA v porovnaní s kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou (referenčná metóda)

Účinnosť testu **cobas**® MRSA/SA v porovnaní s kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou z 2 500 vyhodnotiteľných výsledkov pre MRSA a z 2 501 vyhodnotiteľných výsledkov pre SA je uvedená v Tabuľka 22.

Citlivosť a špecifickosť pre MRSA v porovnaní s kombinovanou priamou a obohatenou kultúrou boli 93,1 % (149/160) a 97,5 % (2 281/2 340) v uvedenom poradí; a prevalencia, PPV a NPV boli 6,4 %, 71,6 % a 99,5 % v uvedenom poradí.

Citlivosť a špecifickosť pre MSA v porovnaní s kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou boli 93,9 % (620/660) a 94,2 % (1 734/1 841) v uvedenom poradí; a prevalencia, PPV a NPV boli 26,4 %, 85,3 % a 97,7 % v uvedenom poradí.

Tabuľka 22 Porovnanie výsledkov testu **cobas®** MRSA/SA s priamou a obohatenou kultiváciou (referenčná metóda)

		Priama a obohatená kultivácia (referenčná metóda)					
		MRSA			SA		
		Pozitívne	Negatívne	Celkom	Pozitívne	Negatívne	Celkom
Test cobas® MRSA/SA	Pozitívne	149	59	208	620	107	727
	Negatívne	11	2 281	2 292	40	1 734	1 774
	Celkom	160	2 340	2 500	660	1 841	2 501
<p>MRSA</p> <p> Citlivosť: 93,1 % (149/160) (95 % CI: 88,1 – 96,1 %)</p> <p> Špecifickosť: 97,5 % (2 281/2 340) (95 % CI: 96,8 – 98,0 %)</p> <p> Rozšírenie: 6,4 %</p> <p> PPV: 71,6 %</p> <p> NPV: 99,5 %</p> <p>SA</p> <p> Citlivosť: 93,9 % (620/660) (95 % CI: 91,9 – 95,5 %)</p> <p> Špecifickosť: 94,2 % (1734/1841) (95 % CI: 93,0 – 95,2 %)</p> <p> Rozšírenie: 26,4 %</p> <p> PPV: 85,3 %</p> <p> NPV: 97,7 %</p>							

Poznámka: Účastníci s výsledkami priamej kultivácie aj platnými výsledkami testu **cobas®** MRSA/SA sa považujú za vyhodnotiteľných a sú zahrnutí v tejto tabuľke.

MRSA = metilicín-rezistentný *Staphylococcus aureus*; NPV = negatívna prediktívna hodnota;

PPV = pozitívna prediktívna hodnota; SA = *Staphylococcus aureus*.

Porovnanie výsledkov testu **cobas®** MRSA/SA s priamou kultiváciou

Výsledky testu **cobas®** MRSA/SA boli porovnané s priamou kultiváciou z 2 504 vyhodnotiteľných výsledkov a toto porovnanie je uvedené v Tabuľka 23.

Celková, pozitívna a negatívna percentuálna zhoda testu **cobas®** MRSA/SA pre MRSA v porovnaní s priamou kultiváciou boli 96,9 % (2 427/2 504), 97,1 % (135/139) a 96,9 % (2 292/2 365) a prevalencia bola 5,6 %.

Celková, pozitívna a negatívna percentuálna zhoda testu **cobas®** MRSA/SA pre SA v porovnaní s priamou kultiváciou boli 93,3 % (2 336/2 504), 97,0 % (577/595) a 92,1 % (1 759/1 909) a prevalencia bola 23,8 %.

Tabuľka 23 Porovnanie výsledkov testu cobas® MRSA/SA s priamou kultiváciou

		Priama kultivácia					
		MRSA			SA		
		Pozitívne	Negatívne	Celkom	Pozitívne	Negatívne	Celkom
Test cobas® MRSA/SA	Pozitívne	135	73	208	577	150	727
	Negatívne	4	2 292	2 296	18	1 759	1 777
	Celkom	139	2 365	2 504	595	1 909	2504
<p>MRSA</p> <p>Percento pozitívnej zhody: 97,1 % (135/139) (95 % CI: 92,8 – 98,9 %)</p> <p>Percento negatívnej zhody: 96,9 % (2 292/2 365) (95 % CI: 96,1 – 97,5 %)</p> <p>Percento celkovej zhody: 96,9 % (2 427/2 504) (95 % CI: 96,2 – 97,5 %)</p> <p>Rozšírenie: 5,6 %</p> <p>SA</p> <p>Percento pozitívnej zhody: 97,0 % (577/595) (95 % CI: 95,3 – 98,1 %)</p> <p>Percento negatívnej zhody: 92,1 % (1 759/1 909) (95 % CI: 90,8 – 93,3 %)</p> <p>Percento celkovej zhody: 93,3 % (2 336/2 504) (95 % CI: 92,2 – 94,2 %)</p> <p>Rozšírenie: 23,8 %</p>							

Poznámka: Účastníci s výsledkami priamej kultivácie aj platnými výsledkami testu cobas® MRSA/SA sa považujú za vyhodnotiteľných a sú zahrnutí v tejto tabuľke.

MRSA = metilín-rezistentný *Staphylococcus aureus*; SA = *Staphylococcus aureus*.

Diskrepančná analýza nesúhlasných a súhlasných vzoriek

Diskrepančná analýza sa vykonala na všetkých nesúhlasných vzorkách (Tabuľka 22) a náhodnej podskupine súhlasných vzoriek, ktoré boli zahrnuté ako kontroly, medzi testom cobas® MRSA/SA a kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou (referenčná metóda), pomocou druhého, FDA schváleného testu amplifikácie nukleovej kyseliny (*Nucleic Acid Amplification Test*, NAAT) a neselektívnej priamej a obohatenej kultivácie.

Celkovo bolo 70 vzoriek s nesúhlasnými výsledkami MRSA: 11 falošne negatívnych výsledkov na MRSA a 59 falošne pozitívnych výsledkov na MRSA (Tabuľka 22). Z 11 vzoriek falošne negatívnych na MRSA sa 5 vzoriek negatívnych na MRSA testovalo druhou metódou NAAT a neselektívnou priamou a obohatenou kultiváciou. Z 59 vzoriek falošne pozitívnych na MRSA sa 20 vzoriek pozitívnych na MRSA testovalo druhou metódou NAAT a neselektívnou priamou a/alebo obohatenou kultiváciou.

Celkovo bolo 147 vzoriek s nesúhlasnými výsledkami SA: 40 falošne negatívnych výsledkov na SA a 107 falošne pozitívnych výsledkov na SA (Tabuľka 22). Zo 40 vzoriek falošne negatívnych na SA sa 31 vzoriek negatívnych na SA testovalo druhou metódou NAAT a neselektívnou priamou a obohatenou kultiváciou. Zo 107 vzoriek falošne pozitívnych na SA sa 24 vzoriek pozitívnych na SA testovalo druhou metódou NAAT a neselektívnou priamou a/alebo obohatenou kultiváciou.

V analýze diskrepancie bolo 74 náhodne vybraných súhlasných vzoriek zahrnutých ako kontroly: 25 súhlasných vzoriek pozitívnych na MRSA, 25 negatívnych na SA a 24 pozitívnych na SA/negatívnych na MRSA. Zo 74 kontrol bolo všetkých 25 vzoriek na pozitívnych MRSA testovaných ako pozitívne na MRSA druhou metódou NAAT alebo neselektívnou priamou a/alebo obohatenou kultiváciou; všetkých 25 vzoriek negatívnych na SA bolo testovaných ako negatívne na SA druhou metódou NAAT a neselektívnou priamou a obohatenou kultiváciou. Z 24 vzoriek pozitívnych na SA bolo 21 vzoriek testovaných ako pozitívne na SA druhou metódou NAAT alebo neselektívnou

priamou a/alebo obohatenou kultiváciou, 1 vzorka bola testovaná ako pozitívna na MRSA neselektívnou obohatenou kultiváciou a 2 vzorky boli testované ako negatívne na SA druhou metódou NAAT a neselektívnou priamou a obohatenou kultiváciou.

Očakávané hodnoty

Rozšírenie

Prevalencia nosového nosičstva MRSA a SA závisí od rôznych faktorov vrátane pobytu v zariadení dlhodobej starostlivosti, predchádzajúcej infekcie alebo kolonizácie MRSA, diabetes mellitus, úzkeho kontaktu s nosičom MRSA/SA a predchádzajúceho užívania antibiotík. Celková prevalencia MRSA a SA pozorovaná pomocou testu **cobas**® MRSA/SA v porovnaní s kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou počas multicentrickej klinickej štúdie bola 6,4 %, resp. 26,4 %.

Hypotetické pozitívne a negatívne prediktívne hodnoty testu **cobas**® MRSA/SA pre MRSA

Hypotetické pozitívne a negatívne prediktívne hodnoty (PPV a NPV) odvodené od miery nosičstva 1 až 30 % pre test **cobas**® MRSA/SA pre MRSA sú uvedené v Tabuľka 24. Citlivosť a špecifickosť testu **cobas**® MRSA/SA v porovnaní s kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou (referencia) pre MRSA bola 93,1 %, resp. 97,5 %.

Tabuľka 24 Hypotetické pozitívne a negatívne prediktívne hodnoty pre MRSA odvodené od prevalencie nosového nosičstva

Rozšírenie (%)	Citlivosť (%)	Špecifickosť (%)	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 %

Poznámka: Citlivosť a špecifickosť sa stanovili porovnaním výsledkov testu **cobas**® MRSA/SA s kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou zo vzoriek výterov z nosa od pacientov testovaných na prítomnosť kolonizácie MRSA alebo SA.

NPV = negatívna predikatívna hodnota, PPV = pozitívna predikatívna hodnota.

Hypotetické pozitívne a negatívne prediktívne hodnoty testu cobas® MRSA/SA pre SA

Hypotetické pozitívne a negatívne prediktívne hodnoty (PPV a NPV) odvodené od miery nosičstva 1 až 30 % pre test cobas® MRSA/SA pre SA sú uvedené v Tabuľka 25. Citlivosť a špecifickosť testu cobas® MRSA/SA v porovnaní s kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou (referencia) pre SA bola 93,9 %, resp. 94,2 %.

Tabuľka 25 Hypotetické pozitívne a negatívne prediktívne hodnoty pre SA odvodené od prevalencie nosičstva výteru z nosa

Rozšírenie (%)	Citlivosť (%)	Špecifickosť (%)	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 %

Poznámka: Citlivosť a špecifickosť sa stanovili porovnaním výsledkov testu cobas® MRSA/SA s kombinovanou priamou a obohatenou kultiváciou zo vzoriek výterov z nosa od pacientov testovaných na prítomnosť kolonizácie MRSA alebo SA.

NPV = negatívna predikatívna hodnota, PPV = pozitívna predikatívna hodnota.

Ďalšie informácie





















































Kľúčové funkcie analýzy

Typ vzorky	Nosová tampónová tyčinka
Požadované množstvo vzorky	1,6 ml média MSwab v primárnej fľaštičke, na test cobas ® MRSA/SA sa vyžaduje najmenej 700 µl.
Trvanie testu	Výsledky sú k dispozícii do 2,5 hodiny po vložení vzorky do systému (1 – 22 vzoriek).
Analytická citlivosť	Od 175 CFU/tampónová tyčinka do 750 CFU/tampónová tyčinka (v závislosti od izolátu).
Špecifickosť	Žiadna krížová reaktivnosť so 147 úzko súvisiacimi organizmami alebo organizmami, ktoré sa spravidla nachádzajú v nosových vzorkách.
Inkluzivita	Celkom bolo testovaných a detegovaných 314 izolátov MRSA a 91 izolátov SA zo 16 krajín, ktoré reprezentovali najmenej 7 typov SCCmec, 10 typov RE a 71 typov spa.

Symbody

Na označenie diagnostických produktov Roche PCR sa používajú nasledujúce symbody.

Tabuľka 26 Symbody používané na označenie diagnostických produktov Roche PCR

 Age/DOB Vek alebo dátum narodenia	 Pomôcka nie je určená na testovanie v blízkosti pacienta	 QS IU/PCR Počet medzinárodných jednotiek QS na PCR; na výpočet výsledkov použite počet medzinárodných jednotiek (IU) QS na PCR.
 Prídavný softvér	 Pomôcka nie je určená na samotestovanie	 SN Sériové číslo
 Assigned Range [copies/mL] Priradený rozsah (kópie/ml)	 Distribútor <i>(Poznámka: Pod symbolom sa môže uviesť príslušná krajina/oblasť.)</i>	 Site Lokalita
 Assigned Range [IU/mL] Priradený rozsah (IU/ml)	 Nepoužívajte opakovane	 Procedure Standard Štandardná procedúra
 EC REP Autorizované zastúpenie v Európskom spoločenstve	 Žena	 STERILE EO Sterilizované etylénoxidom
 BARCODE Dátový list s čiarovým kódom	 Určené len na hodnotenie výkonu IVD	 Skladovať v tmavom prostredí
 LOT Číslo šarže	 GTIN Globálne číslo obchodnej jednotky	 Teplotné rozmedzie od do
 Biologické riziká	 Dovožca	 TDF Testovací definičný súbor
 REF Katalógové číslo	 IVD Diagnostická zdravotnícka pomôcka <i>in vitro</i>	 Týmto smerom hore
 Označenie súladu s normami CE: toto zariadenie spĺňa príslušné požiadavky na označenie CE ako diagnostické zdravotnícke zariadenie <i>in vitro</i> .	 LLR Dolný limit stanoveného rozsahu	 Procedure UltraSensitive Ultracitlivá procedúra
 Collect Date Dátum odberu	 Muž	 UDI Jedinečná identifikácia pomôcky
 Prečítajte si návod na použitie	 Výrobca	 ULR Horný limit stanoveného rozsahu
 Obsah postačuje na <n> testov	 CONTROL - Negatívna kontrola	 Urine Fill Line Čiara naplnenia močom
 CONTENT Obsah súpravy	 Nesterilné	 Rx Only Len pre USA: federálny zákon obmedzuje predaj tejto pomôcky lekárom alebo na základe jeho predpisu.
 CONTROL Kontrola	 Meno pacienta	 Dátum spotreby
 Dátum výroby	 Číslo pacienta	
 Pomôcka na testovanie v blízkosti pacienta	 Tu stiahnite	
 Pomôcka na samotestovanie	 CONTROL + Pozitívna kontrola	
	 QS copies / PCR Počet QS kópií na PCR reakciu, použite počet QS kópií na PCR reakciu na výpočet výsledkov.	

Technická podpora

Ak potrebujete technickú podporu (pomoc), obráťte sa na miestne zastúpenie:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Výrobca a dovozca

Tab. 27 Výrobca a dovozca



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

Vyrobené v USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Ochranné známky a patenty

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

Autorské práva

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.

Literatúra

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.

Revízia dokumentu

Informácie o revízii dokumentu	
Doc. Rev. 4.0 07/2023	<p>Aktualizovaná časť Preventívne opatrenia a manipulácia, ktorá poskytuje používateľom informácie ako kontaktovať miestny kompetentný orgán.</p> <p>Časť Korelácia metódy premenovaná na časť Klinická účinnosť s použitím klinických vzoriek. Pridané ďalšie údaje o klinickej účinnosti do časti Klinická účinnosť na základe klinických vzoriek.</p> <p>Pridaný internetový odkaz na súhrn hlásení týkajúcich sa bezpečnosti a výkonu.</p> <p>Aktualizácia strany so symbolom harmonizácie.</p> <p>Bola aktualizovaná adresa výrobcu a dovozcu.</p> <p>Aktualizovaná časť Ochranné známky a patenty vrátane odkazu.</p> <p>Bola pridaná časť Technická podpora.</p> <p>Revidované v súlade s požiadavkami nariadenia o diagnostických zdravotníckych pomôckach <i>in vitro</i> (IVDR).</p> <p>V prípade akýchkoľvek otázok sa obráťte na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.</p>
Doc. Rev. 5.0 02/2024	<p>Informácie o nebezpečenstvách súpravy Lysis Kit 1 boli aktualizované.</p> <p>Aktualizované označenie cobas®.</p> <p>V prípade akýchkoľvek otázok sa obráťte na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.</p>
Doc. Rev. 6.0 06/2024	<p>Aktualizácia informácií o nebezpečenstvách týkajúcich sa súprav na prípravu vzoriek.</p> <p>Odstránený symbol Rx Only z prednej strany.</p> <p>Aktualizácia strany so symbolom harmonizácie.</p> <p>V prípade akýchkoľvek otázok sa obráťte na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.</p>

Súhrn hlásení týkajúcich sa bezpečnosti a výkonu môžete nájsť pomocou odkazu:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>