

MRSA Assay (Panther Fusion™ System)

Instruções de Utilização
Para fins de diagnóstico *in vitro*
Apenas para exportação pelos EUA

ÍNDICE

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Resumo de segurança e desempenho	3
Princípios do procedimento	3
Advertências e precauções	4
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes	7
Recolha e conservação de espécimes	8
Panther Fusion System	9
Reagentes e materiais fornecidos	9
Materiais necessários mas disponíveis em separado	9
Procedimento de teste no Panther Fusion System	11
Notas procedimentais	12
Controlo de qualidade	13
Controlos negativo e positivo	13
Controlo interno	13
Interpretação de resultados	14
Limitações	15
Desempenho do Panther Fusion System Assay	16
Reprodutibilidade do ensaio	16
Desempenho clínico	17
Sensibilidade analítica	19
Reatividade analítica (inclusividade)	19
Especificidade analítica	19
Interferência competitiva	21
Interferência	21
Transmissão/Contaminação Cruzada	22
Precisão do ensaio	22
Bibliografia	24
Informações de contacto e histórico de revisões	25

Informações gerais

Utilização prevista

O Panther Fusion™ MRSA Assay é um teste de diagnóstico *in vitro* automatizado que usa a química do Invader Plus™ para fazer a detecção e diferenciação qualitativas do DNA de *Staphylococcus aureus* (SA) e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), através de amostras de esfregaços nasais. Este ensaio é para ser usado no Panther Fusion System, para ajudar na prevenção e controlo de infeções por MRSA/SA em ambientes de cuidados de saúde.

Resumo e explicação do teste

O *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é considerado como parte integrante da flora humana normal e pode colonizar a região anterior das narinas, garganta, períneo, virilha e pele.¹ A maioria dos portadores não apresenta sintomas e as bactérias colonizadoras não causam doenças. Mesmo assim, em ambientes de cuidados de saúde, as infeções por *S. aureus* podem ser graves ou fatais. Os sintomas da infeção invasiva por *S. aureus* variam desde infeções leves da pele (furúnculos e abscessos) até bacteremia, septicemia, endocardite, osteomielite e pneumonia.¹

O uso disseminado do antibiótico betalactâmico meticilina, um derivado da penicilina, deu origem ao surgimento de estirpes de *S. aureus* resistentes a antibióticos, referidas como *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA). A resistência a antibióticos do MRSA é amplamente conferida pela expressão do gene *mecA*, que transportado pelo elemento genético móvel conhecido por cassete cromossómica estafilocócica *mec* (SCC*mec*). O gene *mecA* codifica a proteína 2a de ligação à penicilina (PBP2a), uma enzima envolvida na síntese da parede celular que é resistente à inibição por antibióticos betalactâmicos.¹ Em 2011, foi descrito um gene com um mecanismo de resistência alternativo e homólogo, *mecC*, em algumas estirpes de *S. aureus*.^{2,3} O Panther Fusion MRSA assay deteta a presença de *mecA* ou *mecC*, bem como o local de inserção de SCC*mec* numa grelha de leitura aberta (*orfX*) conservada no genoma de *S. aureus*, também denominado de junção *orfX*/SCC*mec*.

As excisões genéticas dentro do elemento SCC*mec* podem causar a ausência de um gene *mecA* funcional, resultando no que se denomina de uma “variante com cassete vazia” transportada por determinadas estirpes de *S. aureus* suscetíveis à meticilina (MSSA) que contêm a sequência-alvo *orfX*/SCC*mec*, mas são negativas para os sinais de *mecA*/*mecC*. As espécies de estafilococos coagulase negativos (CoNS), tais como *Staphylococcus epidermidis*, que normalmente colonizam a pele, também podem transportar o gene *mecA*⁴ mas não transportam a sequência-alvo da junção *orfX*/SCC*mec* específica de *S. aureus*. Assim, para evitar resultados falsos positivos devido a variantes com “cassete vazia” ou espécimes com espécies mistas de estafilococos⁵, o Panther Fusion MRSA assay deteta simultaneamente a presença de alvos *mecA*/*mecC* e de junção *orfX*/SCC*mec* para identificar MRSA. O Panther Fusion MRSA assay também deteta uma variante de GAPDH específica de *S. aureus*, conseguindo assim diferenciar estirpes de SA suscetíveis a fármacos de estirpes resistentes a fármacos.

O MRSA é considerado como uma causa significativa das infeções associadas aos cuidados de saúde (IACS) na UE.⁶ Como resultado da sua natureza altamente invasiva e suscetibilidade limitada ao tratamento, o MRSA representa uma grande responsabilidade clínica com alta morbidade e mortalidade.⁷ Devido à alta prevalência entre pacientes hospitalizados, a identificação exata e rápida do MRSA é necessária para iniciar uma terapia antimicrobiana eficaz e para retardar a disseminação de infeções por MRSA.⁸ Os métodos moleculares para a detecção do MRSA foram introduzidos como uma alternativa mais rápida aos métodos de cultura tradicionais que demoram demasiado tempo.

Resumo de segurança e desempenho

O Resumo de segurança e desempenho (SSP, Summary of Safety and Performance) está disponível na base de dados europeia de dispositivos médicos (Eudamed), onde está associado aos identificadores do dispositivo (UDI-DI básico). Para localizar o SSP do Panther Fusion MRSA assay, consulte o Identificador único do dispositivo básico (BUDI): 54200455DIAGPFMRSADE.

Princípios do procedimento

O Panther Fusion System automatiza completamente o processamento de espécimes (lise celular, captura do ácido nucleico, amplificação e detecção) para o Panther Fusion MRSA Assay. Um controlo interno (IC-X) é automaticamente adicionado a cada espécime através do Reagente de Captura Fusion X (wFCR-X), para monitorizar a interferência durante o processamento, amplificação e detecção de amostras, causada devido à falha de reagentes ou a substâncias inibitórias.

Nota: O Panther Fusion System adiciona o IC-X ao FCR-X. Depois do IC-X ter sido adicionado ao FCR-X, este será referido como wFCR-X.

Processamento de amostras e captura de ácidos nucleicos: Em primeiro lugar, os espécimes são incubados num reagente alcalino (Reagente Estimulador Panther Fusion X ou FER-X) para fazer a lise às células. O ácido nucleico libertado durante o passo de lise é hibridizado com partículas magnéticas no FCR-X. As partículas de captura são separadas da matriz de espécimes residuais, num campo magnético, por uma série de etapas de lavagem com um detergente suave. O ácido nucleico capturado é depois eluído das partículas magnéticas com um reagente de baixa força iónica (Tampão de Eluição Panther Fusion).

Amplificação por PCR multiplex e detecção através do Invader™: A principal mistura de reação de dose unitária liofilizada é reconstituída com o Tampão de Reconstituição Panther Fusion II e combinada com o ácido nucleico eluído num tubo de reação. O Reagente de Óleo Panther Fusion é adicionado para evitar a evaporação durante a reação através do Invader Plus.

Uma reação através do Invader Plus é uma combinação de reações em cadeia da polimerase (PCR) e químicas do Invader. A amplificação do alvo por PCR é feita com primers (inicial e final) específicos do alvo. A detecção de alvos e a geração de sinais são alcançadas através da química do Invader. Durante a fase de detecção, uma sonda primária não identificada e um oligonucleotídeo invasor são hibridizados com o DNA alvo, formando um complexo de DNA ternário que é reconhecido e clivado por uma enzima Cleavase™. Esta reação de clivagem liberta da sonda primária um produto de clivagem específico do alvo. O produto de clivagem específico do alvo é hibridizado com uma cassete de transferência de energia de ressonância de fluorescência (FRET) correspondente, dando origem a outra reação de clivagem. Sempre que uma cassete FRET é clivada, o fluoróforo e o extintor correspondentes são separados, gerando um aumento no sinal de fluorescência detetável.⁹ O ensaio usa sondas primárias específicas do alvo e cassetes FRET emparelhadas com fluoróforos espectralmente distintos para o *orfX/SCCmec*, *mecA/C*, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) e alvos de controlo interno. O ensaio tem como alvo uma isoforma de GAPDH específica para o *S. aureus*. O software do MRSA Panther Fusion Assay calcula um resultado do limite cíclico (Ct) com base no sinal fluorescente acumulado em cada canal fluorescente, para determinar a presença de cada alvo de forma qualitativa.

Os alvos e os canais fluorescentes correspondentes usados no Panther Fusion MRSA Assay estão listados na seguinte tabela:

Alvo	Canal
Junção <i>orfX</i> /SCC <i>mec</i>	FAM
Gene <i>mecA/C</i>	HEX
Gene GAPDH	ROX
Controlo interno	RED677

Advertências e precauções

- A. Para fins de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Leia atentamente todo este folheto informativo e o *Manual de Instruções do Panther/Panther Fusion System*.

Relacionadas com o laboratório

- D. O Reagente Estimulador Panther Fusion X (FER-X) é corrosivo, nocivo por ingestão, e causa queimaduras cutâneas e lesões oculares graves.
- E. Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com a respetiva formação profissional na utilização deste ensaio e no manuseamento de materiais infecciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente, respeitando os procedimentos locais apropriados.
- F. Os espécimes podem ser infecciosos. Utilize as precauções universais quando executar este ensaio. O diretor do laboratório deve estabelecer métodos adequados de manuseamento e eliminação. Este procedimento de diagnóstico só pode ser realizado por pessoal com a formação profissional adequada em manuseamento de materiais infecciosos.¹⁰
- G. Utilize somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- H. Utilize luvas descartáveis e isentas de pó, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes. Lave bem as mãos depois de manusear espécimes e reagentes.
- I. Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com espécimes e reagentes, e faça-o de acordo com os regulamentos regionais, nacionais e internacionais aplicáveis.

Relacionadas com os espécimes

- J. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade dos mesmos. Não foi avaliada a estabilidade do espécime em condições de transporte, para além das recomendadas.
- K. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Os espécimes podem conter níveis extremamente elevados de bactérias ou outros organismos.

Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entrem em contacto uns com os outros e elimine os materiais usados sem passá-los por cima de quaisquer recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com espécimes.

- L. Não use o kit de recolha ESwab caso este esteja danificado, e não o use depois da data de expiração.

Relacionadas com o ensaio

- M. Não use reagentes ou controlos depois da data de expiração.
- N. Conserve os componentes de ensaio nas condições de conservação recomendadas. Consulte *Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes e Procedimento de teste no Panther Fusion System* para obter mais informações.
- O. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos de ensaios. Não ateste reagentes ou fluidos; o Panther Fusion System verifica os níveis de reagentes.
- P. Evite a contaminação microbiana ou com nuclease dos reagentes.
- Q. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser respeitados em conformidade com os regulamentos locais, regionais e/ou nacionais, ou requisitos de certificação, e os procedimentos de controlo de qualidade predefinidos do seu laboratório.
- R. Não utilize o cartucho de ensaio se a bolsa de conservação perder o selo, ou se a película do cartucho de ensaio não estiver intacta. Contacte o Suporte Técnico da Hologic em qualquer um dos casos.
- S. Não use pacotes de fluidos com danos ou fugas. Contacte o Suporte Técnico da Hologic caso isto aconteça.
- T. Manuseie os cartuchos de ensaio com cuidado. Não deixe que os cartuchos de ensaio caiam ou invertam. Evite a exposição prolongada à luz ambiente.
- U. Alguns dos reagentes usados com o Panther Fusion MRSA Assay contêm símbolos de risco e segurança.

Nota: As informações de comunicação de riscos refletem as classificações das Fichas de Dados de Segurança (FDS) da UE e da América do Norte. Para consultar informações de comunicação de perigos específicas da sua região, consulte a respetiva FDS na Biblioteca de Fichas de Dados de Segurança em: www.hologicds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em www.hologic.com/package-inserts.

Informações de perigos para a UE	
	<p>Panther Fusion Oil POLYDIMETHYLSILOXANE 100%</p> <p>ATENÇÃO H315 - Provoca irritação cutânea H319 - Provoca irritação ocular grave</p>

	<p>Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 5-10%</i></p>
	<p>PERIGO H302 - Nocivo por ingestão H314 - Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves P260 - Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis P280 - Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial P303 + P361 + P353 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): despir/retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche P305 + P351 + P338 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar P310 - Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico P280 - Usar protecção ocular/protecção facial</p>
<p>Informações sobre riscos para os EUA</p>	
	<p>Panther Fusion Oil <i>POLYDIMETHYLSILOXANE 95-100%</i></p>
	<p>WARNING H315 - Causes skin irritation H319 - Causes serious eye irritation P264 - Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing P337 + P313 - If eye irritation persists: Get medical advice/attention P302 + P352 - IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water P332 + P313 - If skin irritation occurs: Get medical advice/attention P362 - Take off contaminated clothing and wash before reuse</p>
	<p>Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 5-10%</i></p>
	<p>DANGER H302 - Harmful if swallowed H314 - Causes severe skin burns and eye damage P264 - Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling P270 - Do not eat, drink or smoke when using this product P260 - Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapors/spray P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician P303 + P361 + P353 - IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower P363 - Wash contaminated clothing before reuse P304 + P340 - IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician P301 + P312 - IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell P330 - Rinse mouth P301 + P330 + P331 - IF SWALLOWED: rinse mouth. Do NOT induce vomiting P405 - Store locked up Dispose of contents/container to an approved waste disposal plant</p>

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

A. A seguinte tabela fornece os requisitos de conservação e manuseamento para este ensaio.

Reagente	Conservação fechada	Estabilidade de utilização¹	Conservação aberta
Cartucho de Panther Fusion MRSA Assay	2 °C a 8 °C	60 dias	2 °C a 8 °C ²
Reagente de Captura Panther Fusion X (FCR-X)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Reagente Estimulador Panther Fusion X (FER-X)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Controlo Interno Panther Fusion X (IC-X)	2 °C a 8 °C	(No wFCR-X)	Não aplicável
Tampão de Eluição Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Óleo Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Tampão de Reconstituição Panther Fusion II	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Controlo Positivo MRSA Panther Fusion	2 °C a 8 °C	Frasco descartável	Não aplicável - descartável
Controlo Negativo Panther Fusion II	2 °C a 8 °C	Frasco descartável	Não aplicável - descartável

Depois dos reagentes terem sido retirados do Panther Fusion System, deverá colocá-los imediatamente nas suas respetivas temperaturas de conservação.

¹ A estabilidade de utilização começa na altura em que o reagente é colocado no Panther Fusion System, para o cartucho do Panther Fusion MRSA Assay, FCR-X, FER-X e IC-X. A estabilidade de utilização para o Tampão de Reconstituição Panther Fusion II, Tampão de Eluição Panther Fusion e Reagente de Óleo Panther Fusion começa quando o reagente é usado pela primeira vez.

² Caso o cartucho de ensaio seja retirado do Panther Fusion System, conserve-o num recipiente hermético com dessecante, à temperatura de conservação recomendada.

- B. O wFCR-X e FER-X permanecem estáveis durante 60 dias quando são armazenados a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- C. Elimine quaisquer reagentes não usados que tenham ultrapassado a sua estabilidade de utilização.
- D. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- E. Evite a contaminação cruzada durante o manuseamento e conservação de reagentes.
- F. **Não congele os reagentes.**

Recolha e conservação de espécimes

Espécimes: Material clínico recolhido do paciente e colocado num sistema de transporte adequado. Para o Panther Fusion MRSA Assay, este é o sistema de recolha e transporte ESwab.

Amostras: Representa um termo mais genérico para descrever qualquer material de teste no Panther Fusion System, incluindo espécimes e controlos.

***Nota:** Manuseie todas os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Utilize as precauções universais.*

***Nota:** Tome cuidado para evitar a contaminação cruzada durante as etapas de manuseamento de espécimes. Por exemplo, descarte o material usado sem passar por cima de tubos abertos.*

A. Recolha de espécimes

Recolha uma amostra nasal ESwab de ambas as narinas, de acordo com as práticas predefinidas do seu meio de trabalho, ou use as seguintes orientações:

1. Lave as mãos e calce luvas limpas.
2. Abra a embalagem de esfregaços e retire um esfregaço.
3. Insira cuidadosamente a parte de recolha do esfregaço na narina do paciente.
4. Carregue suavemente e role o esfregaço pelo interior da narina por três a cinco vezes.
5. Repita o processo na outra narina com o mesmo esfregaço.

***Nota:** Para evitar a contaminação, tenha cuidado para não tocar na haste do esfregaço por baixo do ponto de quebra.*

6. Abra o tubo com 1 mL de líquido Amies, coloque o esfregaço da amostra no tubo e quebre a haste do esfregaço no ponto de quebra.
7. Volte a tapar o tubo e elimine a parte restante da haste do esfregaço.
8. Pode rotular o tubo, se necessário.
9. Descalce as luvas e lave as mãos.

***Nota:** Caso o líquido Amies derrame antes do esfregaço ser colocado no tubo, coloque o esfregaço da amostra num novo tubo com 1 mL de líquido Amies. Caso o tubo derrame depois de colocar o esfregaço no tubo, use outro esfregaço para recolher uma nova amostra nasal.*

B. Transporte e conservação de espécimes antes do teste

Depois da recolha, transporte e conserve o espécime no tubo por um período de até 48 horas, a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C, ou por um período de até 5 dias, a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.

C. Conservação de espécimes depois dos testes

1. Coloque os tubos de espécimes num suporte de tubos em posição vertical.
2. Coloque uma nova tampa nas amostras que foram testadas.
3. Se as amostras testadas tiverem que ser congeladas ou expedidas, retire a tampa perfurável e coloque uma nova tampa não perfurável. Mantenha as condições de conservação de espécimes durante o transporte, conforme descrito em *Transporte e conservação de espécimes antes do teste*.

***Nota:** Os espécimes devem ser transportados de acordo com os regulamentos de transporte regionais, nacionais e internacionais em vigor.*

Panther Fusion System

Reagentes e materiais fornecidos

Embalagem do ensaio

Componentes ¹	Cód. nº	Conservação
Cartuchos do Panther Fusion MRSA Assay, 96 testes Cartucho do Panther Fusion MRSA Assay, 12 testes, 8 por caixa	PRD-04803	2 °C a 8 °C
Controlos do Panther Fusion MRSA Assay Tubo de Controlo Positivo MRSA Panther Fusion, 5 por caixa Tubo de Controlo Negativo Panther Fusion II, 5 por caixa	PRD-04805	2° C a 8° C
Controlo Interno Panther Fusion X, 960 testes Tubo de Controlo Interno Panther Fusion X, 4 por caixa	PRD-04476	2 °C a 8 °C
Reagente de Extração Panther Fusion X, 960 testes Frasco de Reagente de Captura Panther Fusion X, 240 testes, 4 por caixa Frasco de Reagente Estimulador Panther Fusion X, 240 testes, 4 por caixa	PRD-04477	15 °C a 30 °C
Tampão de Eluição Panther Fusion, 2.400 testes Embalagem do Tampão de Eluição Panther Fusion, 1.200 testes, 2 por caixa	PRD-04334	15 °C a 30 °C
Tampão de Reconstituição Panther Fusion II, 1.920 testes Tampão de Reconstituição Panther Fusion II, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04804	15 °C a 30 °C
Reagente de Óleo Panther Fusion, 1.920 testes Reagente de Óleo Panther Fusion, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04335	15 °C a 30 °C

¹ Os componentes também podem ser encomendados nos seguintes conjuntos:

O Kit de Fluidos Universais Panther Fusion (PRD-04430) contém uma unidade de Óleo Panther Fusion e uma unidade de Tampão de Eluição Panther Fusion.

Materiais necessários mas disponíveis em separado

Nota: Os materiais disponibilizados pela Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.

Material	Cód. nº
Panther System	303095
Atualização do Módulo Panther Fusion	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Kit de Fluidos de Ensaio Aptima (Solução de Lavagem Aptima, Tampão Aptima para o Fluido de Desativação, e Reagente de Óleo Aptima)	303014 (1.000 testes)
Unidades Multitubulares (MTUs)	104772-02
Kit de Sacos de Resíduos Panther	902731
Tampa do Recipiente de Resíduos Panther	504405
Ou o Kit de Execução do Panther System para ensaios em tempo real contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos e fluidos de ensaio	PRD-03455 (5.000 testes)

Material	Cód. nº
Ou o Kit de Execução do Panther System (para executar ensaios TMA em paralelo com ensaios Panther Fusion) contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, Auto Detect* e fluidos de ensaio	303096 (5.000 testes)
Tabuleiros de Tubos Panther Fusion, 1.008 testes, 18 por caixa	PRD-04000
Pontas, 1000 µL, com filtro, condutoras, deteção de líquido e descartáveis. Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Sistema de Recolha e Transporte de Esfregaços de Eluição em Líquido Amies Copan (ESwab™), ou o equivalente Sistema de Recolha e Transporte de Esfregaços de Eluição (ESwab) em Líquido Amies BD™	480C ou 480CE (Copan) 220245 (Becton Dickinson)
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição (opcionais)	103036A
Tampas de substituição para frascos de reagentes de extração	CL0040
Misturador Vortex	—
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M)	—
Luvas descartáveis e isentas de pó	—

*Somente necessário para ensaios Panther Aptima TMA.

Procedimento de teste no Panther Fusion System

Nota: Consulte o Manual de Instruções do Panther/Panther Fusion System para obter mais informações sobre o procedimento.

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho com 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio. Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante pelo menos um minuto e depois enxague com água desionizada (DI). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada com capas limpas e absorventes, indicadas para bancadas de laboratórios, com forro de plástico.

B. Preparação do reagente

1. Retire os frascos de IC-X, FCR-X e FER-X do meio de conservação.
2. Abra os frascos de IC-X, FCR-X e FER-X, e elimine as tampas. Abra a porta TCR na zona superior do Panther Fusion System.
3. Coloque os frascos de IC-X, FCR-X e FER-X nas posições apropriadas, no carrossel TCR.
4. Feche a porta TCR.

Nota: O Panther Fusion System adiciona IC-X ao frasco de FCR-X. Depois do IC-X ter sido adicionado ao FCR-X, este será referido como wFCR-X. Caso o wFCR-X e FER-X sejam retirados do sistema, use tampas novas e conserve imediatamente de acordo com as condições de conservação adequadas.

C. Manuseamento de espécimes

1. Coloque cada espécime no vórtice durante cinco segundos. Não inverta o tubo.
2. Retire a tampa do tubo e depois o esfregaço.
3. Deite fora a tampa do tubo e o esfregaço de acordo com os procedimentos laboratoriais.
4. Coloque uma tampa perfurável no tubo.
5. Inspeccione os tubos de espécimes antes de colocá-los no suporte. Caso um tubo de espécime tenha bolhas ou um volume inferior ao que é normalmente observado, toque suavemente no fundo do tubo para deslocar as bolhas e transportar o conteúdo para o fundo.

Nota: Para evitar um erro de processamento, verifique se o volume do espécime é superior a 500 µL. Há volume suficiente para realizar duas reações no Panther Fusion a partir de um espécime recolhido com o kit de recolha ESwab.

D. Preparação do sistema

Para obter instruções sobre como configurar o Panther Fusion System, incluindo sobre como carregar amostras, reagentes, cartuchos de ensaio e fluidos universais, consulte o *Manual de Instruções do Panther/Panther Fusion System*.

Notas procedimentais

A. Controlos

1. O Controlo Positivo MRSA Panther Fusion e o Controlo Negativo Panther Fusion II podem ser carregados em qualquer posição no suporte, em qualquer corredor na zona de amostras, no Panther Fusion System.
2. Quando os tubos de controlo são pipetados e processados para o Panther Fusion MRSA Assay, estes permanecem válidos por até 30 dias (com a frequência de controlo configurada por um administrador), a menos que os resultados de controlo sejam inválidos ou um novo lote de cartuchos de ensaio seja carregado.
3. O Controlo Positivo MRSA Panther Fusion e o Controlo Negativo Panther Fusion II podem aparecer turvos ou conter precipitado incapaz de interferir com os resultados do teste. Se deixar os controlos alcançarem a temperatura ambiente antes do processamento, isso irá permitir que o precipitado se dissolva. **Não coloque os controlos no vórtice.**
4. Cada tubo de controlo só pode ser testado uma única vez.
5. A pipetagem do espécime do paciente começa quando se verifica uma das seguintes condições:
 - a. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.
 - b. Um conjunto de controlos está a ser processado pelo sistema.

Controlo de qualidade

O software do Panther Fusion MRSA Assay poderá invalidar um resultado de espécime ou execução se ocorrerem problemas durante a realização do ensaio. Os espécimes com resultados inválidos devem ser novamente testados.

Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, um conjunto de controlos de ensaio deve ser testado. Uma réplica do Controlo Positivo MRSA Panther Fusion e uma réplica do Controlo Negativo Panther Fusion II devem ser testadas sempre que um novo lote de cartuchos de ensaio é carregado no Panther Fusion System, ou quando o atual conjunto de controlos válidos para um lote de cartuchos de ensaio ativo perde a validade.

O Panther Fusion System é configurado para que os controlos de ensaio sejam executados com um intervalo (especificado pelo administrador) de até 30 dias. O software no Panther Fusion System alerta o operador quando os controlos de ensaio são necessários e não inicializa novos testes até os controlos de ensaio terem sido carregados e o processamento ter sido inicializado.

Durante o processamento, os critérios de aceitação dos controlos de ensaio são automaticamente verificados pelo Panther Fusion System. Para gerar resultados válidos, os controlos de ensaio devem passar uma série de verificações de validade no Panther Fusion System.

Se os controlos de ensaio passarem todas as verificações de validade, estes serão considerados como válidos para o intervalo de tempo especificado pelo administrador. Quando o intervalo de tempo passar, os controlos de ensaio serão expirados pelo Panther Fusion System, e um novo conjunto de controlos de ensaio será necessário antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Se qualquer um dos controlos de ensaio falhar as verificações de validade, o Panther Fusion System irá automaticamente invalidar as amostras afetadas, e um novo conjunto de controlos de ensaio deverá ser testado antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Controlo interno

Um controlo interno é adicionado a cada amostra durante o processamento automatizado de espécimes no Panther Fusion System. Durante o processamento, os critérios de aceitação do controlo interno são automaticamente verificados pelo software do Panther Fusion System. A deteção do controlo interno não é necessária para as amostras que são positivas para qualquer alvo de ensaio. O controlo interno deve ser detetado em todas as amostras que são negativas para qualquer alvo de ensaio. Os espécimes que não satisfazem estes critérios são reportados como inválidos. Cada espécime com um resultado inválido deve ser testado de novo.

O Panther Fusion System foi criado para verificar processos com precisão, quando os procedimentos são feitos de acordo com as instruções fornecidas neste folheto informativo e no *Manual de Instruções do Panther/Panther Fusion System*.

Interpretação de resultados

O software do Panther Fusion MRSA Assay determina automaticamente os resultados para amostras e controlos. Os resultados de SA e MRSA são apresentados em separado. Um resultado pode ser negativo para SA e negativo para MRSA, positivo para SA e negativo para MRSA, positivo para SA e positivo para MRSA, ou inválido. Os espécimes com resultados inválidos devem ser novamente testados.

A tabela 1 apresenta os possíveis resultados comunicados com as correspondentes interpretações dos mesmos.

Tabela 1: Interpretação de testes

Junção <i>orfX</i> / SCC <i>mec</i> (FAM)	<i>mecA/C</i> (HEX)	GAPDH (ROX)	Controlo interno (RED677)	Resultado	
				MRSA	SA
+	+	+	+/-	Positivo	Positivo
+	-	+	+/-	Negativo	Positivo
-	+	+	+/-	Negativo	Positivo
-	-	+	+/-	Negativo	Positivo
+	-	-	+/-	Negativo	Negativo
-	+	-	+/-	Negativo	Negativo
+	+	-	+/-	Negativo	Negativo
-	-	-	+	Negativo	Negativo
-	-	-	-	Inválido	Inválido

Limitações

- A. O uso deste ensaio está limitado a pessoal com formação profissional para efetuar este procedimento. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto pode causar resultados erróneos.
- B. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, transporte, conservação e processamento adequados dos espécimes.
- C. A contaminação só pode ser evitada pela adesão às boas práticas laboratoriais e aos procedimentos especificados neste folheto informativo.
- D. O Panther Fusion MRSA Assay só foi validado para utilização com amostras de esfregaços nasais recolhidas com o Sistema de Recolha e Transporte de Esfregaços de Eluição em Líquido Amies Copan (ESwab), ou com o Sistema de Recolha e Transporte de Esfregaços de Eluição (ESwab) em Líquido Amies BD equivalente.
- E. Recolha amostras de esfregaços nasais, seguindo os procedimentos no folheto informativo do sistema de recolha e transporte ESwab.
- F. As novas estirpes de MRSA ou SA - com mutações ou polimorfismos em regiões de ligação ao primer ou sonda - podem não ser detetadas com o Panther Fusion MRSA Assay. As amostras positivas para alvos de GAPDH e *mecA/mecC*, mas não negativas para o alvo da junção *orfX/SCCmec* podem representar falsos negativos devido a tipos de MRSA SCCmec/MREJ novos ou pouco comuns. Estas amostras podem requerer uma discriminação adicional através de métodos de deteção alternativos.
- G. O Panther Fusion MRSA Assay pode gerar um resultado falso positivo para MRSA ao testar uma amostra nasal de infeção mista (de estafilococo resistente à meticilina e negativo para coagulase, e de uma cassette de SA vazia).
- H. O *S. argenteus*, uma espécie coagulase positiva do género *Staphylococcus* que está intimamente relacionada com o *S. aureus*, é raro, mas pode produzir um resultado falso positivo no Panther Fusion MRSA assay.

Desempenho do Panther Fusion System Assay

Reprodutibilidade do ensaio

A reprodutibilidade do Panther Fusion MRSA Assay foi avaliada em três centros, com um painel de reprodutibilidade de cinco membros. Realizaram-se testes com um lote de reagentes de ensaio e seis operadores (dois em cada centro). Em cada centro, o teste foi feito duas vezes por dia (uma execução por operador), durante pelo menos cinco dias. Cada execução teve três réplicas de cada membro do painel.

Os membros do painel estão descritos na Tabela 2, juntamente com um resumo da concordância com os resultados esperados para cada membro do painel. A Tabela 3 apresenta a análise da média e variabilidade entre centros, entre operadores, entre dias, entre execuções e em execuções, e o geral (total) para os valores de Ct.

Tabela 2: Concordância percentual com o resultado esperado

Membro do painel		% Concordância			
Descrição	Concentração	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Concordância total
Positivo moderado de MRSA	MRSA a 2-3X de LD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Positivo baixo de MRSA	MRSA a 1-2X de LD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Positivo moderado de SA	SA a 2-3X de LD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Positivo baixo de SA	SA a 1-2X de LD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativo	MNS não misturada	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)

LD = Limite de Detecção, MNS = Matriz Nasal Simulada.

Tabela 3: Variabilidade do valor de Ct

Membro do painel		Alvo	POS n	Média do Ct	Entre centros		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Em execuções		Total	
Descrição	Concentração				DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV
Positivo moderado de MRSA	MRSA a 2-3X de LD	<i>orfX/SCCmec</i>	90	34,0	0,3	0,8	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,5	1,4	0,6	1,7
		<i>mec A/C</i>	90	35,1	0,3	0,9	0,0	0,0	0,2	0,6	0,1	0,4	0,4	1,2	0,6	1,7
		GAPDH	90	33,2	0,3	0,9	0,1	0,3	0,1	0,4	0,1	0,4	0,4	1,3	0,6	1,7
Positivo baixo de MRSA	MRSA a 1-2X de LD	<i>orfX/SCCmec</i>	90	35,2	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	1,8	0,7	1,9
		<i>mec A/C</i>	90	36,2	0,3	0,7	0,0	0,0	0,1	0,3	0,1	0,3	0,5	1,4	0,6	1,6
		GAPDH	90	34,2	0,3	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,4	1,3	0,6	1,6
Positivo moderado de SA	SA a 2-3X de LD	GAPDH	90	32,9	0,4	1,2	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,4	1,1	0,6	1,7
Positivo baixo de SA	SA a 1-2X de LD	GAPDH	90	33,9	0,4	1,2	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,7	0,4	1,2	0,6	1,9
Negativo	MNS apenas (não misturada)	IC	90	35,2	0,2	0,5	0,0	0,0	0,1	0,2	0,2	0,7	0,4	1,3	0,5	1,5

Ct = limite cíclico, CV = coeficiente de variação, LoD = limite de detecção, POS = Positivo, DP = desvio padrão, SNM = matriz nasal simulada.

Desempenho clínico

O desempenho clínico foi avaliado através da comparação dos resultados do Panther Fusion MRSA Assay com os resultados de um ensaio de referência de teste de ácido nucleico de diagnóstico *in vitro*.

As amostras de esfregaços nasais foram recolhidas num hospital dos EUA, com o sistema de transporte de Amies líquido Copan ESwab. Uma alíquota do espécime foi testada com um ensaio de referência de teste de ácido nucleico de diagnóstico *in vitro*. O espécime restante foi posteriormente congelado, enviado para a Hologic e testado com o Panther Fusion MRSA Assay.

No total, 805 espécimes foram testados para SA e MRSA, com o Panther Fusion MRSA Assay e o ensaio de referência.

Em comparação com o método de referência, a sensibilidade e especificidade do Panther Fusion MRSA Assay foram de 95,6% e 96,8%, respetivamente, para a deteção de MRSA (Tabela 4), e 95,9% e 95,7%, respetivamente, para a deteção de SA (Tabela 5).

Além disso, pelo menos um estudo revisto por pares da literatura científica avaliou o desempenho clínico do Panther Fusion MRSA assay utilizando 434 espécimes de esfregaços nasais colhidos num hospital, em Lyon, França. A concordância geral entre os métodos de cultura primários e os testes Panther Fusion MRSA foi de 88% (n=382/434) antes da análise de discrepância. Após análises adicionais de amostras discrepantes com cultura enriquecida e um teste de ácido nucleico clinicamente validado, a concordância do Panther Fusion com um resultado de consenso determinado utilizando métodos de referência de cultura e moleculares foi de 97,5% para a deteção de SA (n=423/434; $\kappa = 0,943$; IC de 95% = 90,9%; 97,6%) e 97,9% para a deteção de MRSA (n=425/434; $\kappa = 0,841$; IC de 95% = 73,9%; 94,4%). Os investigadores do estudo concluíram que dada a excelente concordância com métodos de referência, o Panther Fusion MRSA assay é uma ferramenta fiável para o rastreio rápido de MRSA.¹¹

Tabela 4: Desempenho do Panther Fusion MRSA Assay em comparação com o ensaio de referência para a detecção de MRSA

MRSA		Ensaio de referência		Total
		POS	NEG	
Panther Fusion MRSA Assay	POS	109	22 ¹	131
	NEG	5 ¹	669	674
Total		114	691	805
Sensibilidade		95,6% (109/114) (95% de IC: 90,1% a 98,1%)		
Especificidade		96,8% (669/691) (95% de IC: 95,2% a 97,9%)		
VPP		83,2% (109/131) (95% de IC: 75,9% a 88,6%)		
VPN		99,3% (669/674) (95% de IC: 98,3% a 99,7%)		
Porcentagem de concordância		96,6% (778/805) (95% de IC: 95,2% a 97,7%)		

NEG = Negativo, VPN = Valor Previsto Negativo, POS = Positivo, VPP = Valor Previsto Positivo.

¹ Os espécimes que geraram resultados de teste de MRSA discordantes entre o Panther Fusion MRSA Assay e o ensaio de referência foram posteriormente avaliados com um método de cultura de enriquecimento.

Entre as vinte e duas amostras de MRSA do Panther Fusion MRSA Assay que produziram um resultado falso positivo para MRSA, 12 foram positivas para MRSA depois da resolução discordante da cultura enriquecida.

Entre as cinco amostras de MRSA do Panther Fusion MRSA Assay que produziram um resultado falso negativo para MRSA, quatro foram negativas para MRSA depois da resolução discordante da cultura enriquecida.

Tabela 5: Desempenho do Panther Fusion MRSA Assay em comparação com o ensaio de referência para a detecção de SA

SA		Ensaio de referência		Total
		POS	NEG	
Panther Fusion MRSA Assay	POS	234	24 ¹	258
	NEG	10 ¹	537	547
Total		244	561	805
Sensibilidade		95,9% (234/244) (95% de IC: 92,6% a 97,8%)		
Especificidade		95,7% (537/561) (95% de IC: 93,7% a 97,1%)		
VPP		90,7% (234/258) (95% de IC: 86,5% a 93,7%)		
VPN		98,2% (537/547) (95% de IC: 96,7% a 99,0%)		
Porcentagem de concordância		95,8% (771/805) (95% de IC: 94,2% a 97,0%)		

NEG = Negativo, VPN = Valor Previsto Negativo, POS = Positivo, VPP = Valor Previsto Positivo.

¹ Os espécimes que geraram resultados de teste de SA discordantes entre o Panther Fusion MRSA Assay e o ensaio de referência foram posteriormente avaliados com um método de cultura de enriquecimento.

Entre as 24 amostras de SA do Panther Fusion MRSA Assay que produziram um resultado falso positivo para SA, 11 foram positivas para SA depois da resolução discordante da cultura enriquecida.

Entre as 10 amostras de SA do Panther Fusion MRSA Assay que produziram um resultado falso negativo para SA, sete foram negativas para SA depois da resolução discordante da cultura enriquecida.

Sensibilidade analítica

Os intervalos de confiança de 95% para o limite de detecção (LD) de MRSA e SA com o Panther Fusion MRSA Assay foram determinados com a matriz nasal simulada (MNS), misturada em múltiplas concentrações, com duas estirpes de MRSA e uma estirpe de SA. Vinte e uma réplicas foram testadas com três lotes de reagentes em cada concentração, perfazendo um total de 63 réplicas. As concentrações de LD específicas do alvo foram determinadas pela análise Probit e verificadas através do teste de um número superior ou igual a 20 réplicas adicionais, com um lote de reagentes. O valor de UFC/mL obtido - representativo do valor de LD para cada estirpe - foi confirmado pela contagem de placas (Tabela 6).

Tabela 6: Sensibilidade analítica

Estirpe	Origem (ID)	Tipo de SCCmec	Limite de detecção (UFC/mL)
<i>S. aureus</i> (SA), Seattle 1945	ATCC (25923)	N/D	1.833
<i>S. aureus</i> resistente à meticilina (MRSA), NYBK2464	ATCC (BAA-41)	II	2.383
<i>S. aureus</i> resistente à meticilina (MRSA), HPV107	ATCC (BAA-44)	I	1.183

Reatividade analítica (inclusividade)

Foi utilizada uma coleção de estirpes de MRSA e SA previamente caracterizadas e geograficamente diversas para avaliar a reatividade analítica do Panther Fusion MRSA assay. No total, foram testadas 106 estirpes de MRSA e 22 estirpes de SA com a SNM próxima do LoD do ensaio.

As estirpes de MRSA testadas com o Panther Fusion MRSA assay foram colhidas em locais geográficos diversos em 27 países diferentes e representavam vários tipos e subtipos de SCCmec (I, II, III, IV, IVa-e, IVg-h, V, VI, VII, VIII, IX e XI) e vários tipos de MREJ (i, ii, iii, iv, xii, xv, xviii e xxi). O clone da Baía de Bengala (ST772) também estava entre as estirpes de MRSA testadas. As concentrações inibitórias mínimas de oxacilina das estirpes de MRSA testadas variaram de baixas a altas (de 0,5 a mais de 256 µg/mL). Algumas estirpes de MRSA e SA também foram caracterizadas anteriormente por eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) e foram testados diversos tipos de PFGE (USA100-1200 incluindo USA300-0114, CC130, WA-MRSA e ibérico). As estirpes de SA testadas incluíram 9 estirpes de variante com cassete vazia e 8 estirpes de *S. aureus* resistentes a oxacilina (BORSA) no limite.

Todas as estirpes testadas foram corretamente identificadas como MRSA ou SA pelo Panther Fusion MRSA assay, demonstrando que o Panther Fusion MRSA assay identificou corretamente diversas estirpes de *S. aureus* resistente a meticilina como MRSA positivas e *S. aureus* suscetível à meticilina como SA positivas e MRSA negativas.

Especificidade analítica

A especificidade analítica do Panther Fusion MRSA Assay foi avaliada através do teste de 95 organismos não alvos, normalmente presentes no nariz (Tabela 7). As bactérias (77 estirpes) e os fungos (duas estirpes) foram testados em concentrações de 10⁶ UFC/mL ou UI/mL (unidades infecciosas por mL), ou cópias/mL. Os vírus (16 estirpes) foram testados em concentrações de 10⁵ UFP/mL (unidades de formação de placas por mL). Cada organismo foi adicionado à MNS e testado na presença e ausência de MRSA ou SA a 3X de LD. Não foi observada reatividade cruzada. Não foi observada interferência na presença do organismo.

Tabela 7: Micro-organismos normalmente encontrados em amostras nasais e testados quanto a reatividade cruzada

Vírus		
Adenovírus tipo 1	Vírus do sarampo	Gripe A H1N1
Adenovírus tipo 7A	Vírus da papeira	Vírus da gripe tipo 1
Citomegalovírus	Vírus da gripe tipo 3	Vírus da gripe tipo 2
Enterovírus tipo 68	Vírus sincicial respiratório tipo B	Rinovírus tipo 1A
Metapneumovírus humano (hMPV) 18 tipo B2	Coronavírus estirpe 229E	
Gripe B	Vírus Epstein Barr	
Bactérias e fungos		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus equorum</i>
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	<i>Legionella wadsworthii</i>	<i>Staphylococcus felis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus gallinarum</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis avirulent</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus kloosii</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	<i>Staphylococcus lentus</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
<i>Corynebacterium aquaticus</i> (<i>Leifsonia aquatica</i>)	<i>Pasteurella aerogenes</i>	<i>Staphylococcus pulvereri</i>
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Corynebacterium flavescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i> (<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterococcus flavescens</i>	<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Staphylococcus auricularis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus caprae</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Staphylococcus carnosus</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>Urealyticum</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Staphylococcus delphini</i>	
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	

Interferência competitiva

As infecções mistas de MRSA com SA, MRSA com *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) e SA com MRSE foram avaliadas com o Panther Fusion MRSA Assay, testando o alvo do ensaio (MRSA ou SA) perto do limite de detecção, na presença de um organismo microbiano concorrente em alta concentração. Os resultados apresentados em Tabela 8 indicam que a sensibilidade da detecção de MRSA e SA não foi afetada por infecções mistas nas condições testadas.

Tabela 8: Interferência competitiva

Micro-organismo concorrente		Alvo		Resultado do Panther Fusion MRSA Assay	
Descrição	Concentração	Descrição	Concentração	MRSA	SA
SA	1,8 x 10 ⁷ UFC/mL	MRSA	3X de LD	+	+
MRSE	1,8 x 10 ⁷ UFC/mL	MRSA	3X de LD	+	+
MRSE	2,7 x 10 ⁷ UFC/mL	SA	3X de LD	-	+

UFC = Unidade de Formação de Colônias, LD = Limite de Detecção.

Interferência

As substâncias potencialmente interferentes que podiam estar presentes nas amostras foram avaliadas com o Panther Fusion MRSA Assay. As concentrações clinicamente relevantes das múltiplas substâncias endógenas e exógenas (Tabela 9) foram testadas na ausência e presença de MRSA e SA, respectivamente, próximas do LD. Nenhuma das substâncias nas concentrações testadas teve impacto no desempenho do Panther Fusion MRSA Assay.

Tabela 9: Substâncias potencialmente interferentes

Tipo	Substância	Princípios ativos	Concentração
Endógeno	Sangue	Sangue 100% humano	5% v/v
	Mucina	Mucina bovina da glândula submaxilar	0,5% w/v
Medicamentos sem Receita Médica	Nasarox	0,05% de hidrocloreto de oximetazolina	15% v/v
	Spray Nasal Dristan	0,05% de hidrocloreto de oximetazolina	15% v/v
	Otrivina	0,1% de hidrocloreto de oximetazolina	15% v/v
	Spray Nasal Água do Mar	0,65% de cloreto de sódio	15% v/v
	Neo-Sinefrina	1,0% de hidrocloreto de fenilefrina	15% v/v
	Pastilhas para a Garganta Chloroseptic	0,4% de benzocaína (15 mg por pastilha) e 0,3% de metanol (10 mg por pastilha)	15% w/v
	Gel Nasal Zicam	0,05% de hidrocloreto de oximetazolina	15% w/v
	Flonase	0,05% de propionato de fluticasona	15% v/v
	Spray Nasal NasalCrom	Cromoglicato de sódio	15% v/v

Tabela 9: Substâncias potencialmente interferentes (continuação)

Tipo	Substância	Princípios ativos	Concentração
Medicamentos com Receita Médica	Taro-Mupirocina, Pomada de Mupirocina, USP, 2%	Mupirocina	0,5 mg/mL
	Relenza	5 mg de zanamivir	2,0 mg/mL
	Tobramicina	Tobramicina	4,5 mg/mL
	Solução Nasal de Flunisolida USP, 0,025%	Flunisolida	0,12 mg/mL
	Beconase AQ	Beclometasona	0,4 mg/mL

v/v = volume/volume, w/v = peso/volume.

Transmissão/Contaminação Cruzada

A transmissão/contaminação cruzada foi avaliada em nove execuções separadas, feitas em três instrumentos. Cada execução incluiu amostras negativas intercaladas (MNS) e amostras positivas altas (MNS com 5×10^7 UFC/mL de MRSA). A taxa de transmissão foi de 0,0%.

Precisão do ensaio

A precisão do Panther Fusion MRSA Assay foi avaliada por três operadores com amostras planejadas no LD ou perto do LD, em duas execuções separadas por dia, com três lotes de reagentes em três instrumentos Panther Fusion, ao longo de 35 dias.

A Tabela 10 apresenta a taxa de positividade (%) e a concordância percentual (IC de 95%). A Tabela 11 apresenta a análise da média e variabilidade dos valores de Ct entre instrumentos, entre operador, entre lotes, entre dias, entre execuções e em execuções, e o Ct geral.

Tabela 10: Concordância percentual do resultado esperado

Alvo	Membro do painel		% positiva para o tipo de alvo (n positivo / n válido)	% Concordância (95% de IC)
	Descrição	Concentração (na MNS)		
MRSA	Positivo moderado de MRSA	MRSA a 2-3X de LD	100,0% (160/160)	100,0% (97,7 - 100%)
	Positivo baixo de MRSA	MRSA a 1-2X de LD	99,4% (159/160)	99,4% (96,5 - 99,9%)
SA	Positivo moderado de SA	SA a 2-3X de LD	100,0% (160/160)	100,0% (97,7 - 100%)
	Positivo baixo de SA	SA a 1-2X de LD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
Negativo	Negativo	MNS apenas (não misturada)	0,0% (0/162)	100,0% (97,7 - 100%)

IC = Intervalo de Confiança, LD = Limite de Detecção, MNS = Matriz Nasal Simulada.

Tabela 11: Variabilidade do valor de Ct

Membro do painel	Alvo	POS n	Média do Ct	Entre instrumentos		Entre operadores		Entre lotes		Entre dias		Entre execuções		Em execuções		Total	
				DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV
Positivo moderado de MRSA	<i>orfX/SCCmec</i>	160	33,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,2	0,5	0,2	0,6	0,4	1,1	0,5	1,5
	<i>mec A/C</i>	160	35,2	0,1	0,3	0,1	0,3	0,3	1,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,4	1,0	0,6	1,7
	GAPDH	160	33,4	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3	0,8	0,1	0,4	0,2	0,5	0,3	0,9	0,5	1,5
Positivo baixo de MRSA	<i>orfX/SCCmec</i>	160	35,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,2	0,5	0,1	0,3	0,0	0,0	0,6	1,8	0,7	1,9
	<i>mec A/C</i>	160	36,5	0,1	0,3	0,1	0,4	0,3	0,9	0,2	0,5	0,0	0,0	0,6	1,7	0,7	2,0
	GAPDH	159	34,6	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3	0,8	0,1	0,4	0,0	0,0	0,5	1,5	0,6	1,9
Positivo moderado de SA	GAPDH	160	33,3	0,2	0,5	0,0	0,0	0,3	0,8	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,6
Positivo baixo de SA	GAPDH	162	34,3	0,2	0,6	0,2	0,5	0,2	0,4	0,0	0,0	0,2	0,7	0,4	1,2	0,6	1,6
Negativo	IC	162	35,4	0,6	1,8	0,0	0,0	0,4	1,1	0,3	0,7	0,3	0,8	0,6	1,6	1,0	2,9

Ct = limite cíclico, CV = coeficiente de variação, POS = Positivo, DP = desvio padrão.

Bibliografia

1. Murray, P., Rosenthal, K., Kobayashi, G., and Pfaller, M. 2002. Medical Microbiology (4th Ed.), pp. 207-216. Mosby, St. Louis, MO.
2. García-Álvarez, L., Holden, M.T.G., Lindsay, H., Webb, C.R., Brown, D.F.J., Curran, M.D., Walpole, E., Brooks, K., Pickard, D.J., Teale, C., Parkhill, J., Bentley, S.D., Edwards, G.F., Girvan, E.K., Kearns, A.M., Pichon, B., Hill, R.L., Larsen, A.R., Skov, R.L., Peacock, S.J., Maskell, D.J., e Holmes, M.A. 2011. *Staphylococcus aureus* resistente à metilina, com um novo homólogo de *mecA* em populações humanas e bovinas no Reino Unido e na Dinamarca - um estudo descritivo. *Lancet Infect Dis.* 11(8): 595–603. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70126-8.
3. Shore, A.C., Deasy, E.C., Slickers, P., Brennan, G., O'Connell, B., Monecke, S., Ehricht, R., e Coleman, D.C. 2011. Detecção do cromossoma *mec* tipo XI da cassete estafilocócica, portador dos genes *mecA*, *mecl*, *mecR1*, *blaZ* e *ccr* altamente divergentes em estirpes clínicas humanas do complexo clonal 130 do *Staphylococcus aureus* resistente à metilina. *Antimicrob Agents Chemother.* 55(8): 3765-3773. doi: 0.1128/AAC.00187-11.
4. Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. 2014. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*, 27(4), 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>.
5. Huletsky, A., Giroux, R., Rossbach, V., Gagnon, M., Vaillancourt, M., Bernier, M., Gagnon, F., Truchon, K., Bastien, M., Picard, F. J., van Belkum, A., Ouellette, M., Roy, P. H., & Bergeron, M. G. 2004. New real-time PCR assay for rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from specimens containing a mixture of staphylococci. *J Clin Microbiol*, 42(5), 1875–1884. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.5.1875-1884.2004>.
6. Köck, R., Becker, K., Cookson, B., van Gemert-Pijnen, J.E., Harbarth, S., Kluytmans, J., Mielke, M., Peters, G., Skov, R.L., Struelens, M.J., Tacconelli, E., Navarro Torné, A., Witte, W., e Friedrich, A.W. 2010. *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) - o peso da doença e os desafios do respetivo controlo na Europa. *Euro Surveill.* 15(41), pii=19688. Disponível online em: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19688>.
7. Ventola, C.L. 2015. O grande problema da resistência aos antibióticos: Parte 1: Causas e ameaças. *Pharm Ther.* 40(4):277–283.
8. Bode, L.G.M., Kluytmans, J.A.J.W., Wertheim, H.F.L., et al. 2010. Prevenção de infeções incisionais em portadores nasais do *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med.* 362(1):9-17.
9. Allawi, H.T., Li, H., Sander, T., et al. 2006. O método do Invader Plus deteta o vírus do herpes simples no líquido cefalorraquidiano, e diferencia os tipos 1 e 2 ao mesmo tempo. *J Clin Microbiol.* 44(9), 3443-3447.
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. Documento M29: Proteção de Funcionários Laboratoriais Contra Infeções Ocupacionais Adquiridas. Website do CLSI, <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Accessed September 2017.
11. Maurin, E., Ranc, A. G., Abad, L., Bes, M., Gustave, C. A., Vandenesch, F., Dupieux-Chabert, C., Tristan, A., & Laurent, F. 2020. Performance of the Hologic Panther Fusion® MRSA Assay for the nasal screening of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 39(11), 2169–2176. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03968-8>.

Informações de contacto e histórico de revisões



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 EUA



Endereço do promotor australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone do Suporte técnico e do Apoio ao Cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Este produto destina-se apenas a utilização no campo do diagnóstico in vitro humano.

Em caso de incidente grave, notifique o Fabricante e as Autoridades competentes da sua região.

A Hologic, Aptima, Cleavase, Invader, Invader Plus, Panther, Panther Fusion e os logótipos associados são marcas comerciais e/ou marcas registadas da Hologic, Inc. e/ou das suas respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países.

A ESwab é uma marca comercial da Copan Diagnostics, Inc.

Quaisquer outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

Este produto pode estar abrangido por uma ou várias patentes nos EUA, as quais podem ser consultadas em: www.hologic.com/patents.

© 2017-2022 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-22789-601 Rev. 001
2022-06

Histórico de revisão	Data	Descrição
AW-22789-001-Rev. 001	Junho de 2022	<ul style="list-style-type: none"> • Criação das instruções de utilização do Panther Fusion MRSA assay com base em AW-18028-001 Rev. 003 para conformidade regulamentar com o IVDR. • Atualização das secções Resumo e explicação do teste, Desempenho clínico, Reatividade analítica (inclusividade) e informações do estudo de Contaminação por transferência/cruzada, e da secção Materiais necessários, mas disponíveis em separado. • Atualização de informações de contacto incluindo: Representante na CE, marcação CE, informações do representante australiano e suporte técnico. • Diversas atualizações de estilo e formatação.