

## MRSA Assay (Panther Fusion™ System)

Návod na použitie  
Na diagnostické použitie *in vitro*  
Len na export z USA

### OBSAH

<b>Všeobecné informácie</b> .....	<b>2</b>
Určené použitie .....	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu .....	2
Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu .....	3
Princípy postupu .....	3
Varovania a bezpečnostné opatrenia .....	4
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensmi .....	7
Odber preparátov a skladovanie .....	8
<b>Systém Panther Fusion</b> .....	<b>9</b>
Poskytnuté reagensie a materiály .....	9
Potrebné materiály dostupné samostatne .....	9
Postup testovania systému Panther Fusion .....	11
Poznámky k postupu .....	12
<b>Kontrola kvality</b> .....	<b>13</b>
Negatívne a pozitívne kontroly .....	13
Interná kontrola .....	13
<b>Interpretácia výsledkov</b> .....	<b>14</b>
<b>Obmedzenia</b> .....	<b>15</b>
<b>Výkonnosť rozboru systému Panther Fusion</b> .....	<b>16</b>
Reprodukovateľnosť rozboru .....	16
Klinický výkon .....	17
Analytická citlivosť .....	19
Analytická reaktivita (inkluzívnosť) .....	19
Analytická špecificita .....	19
Kompetitívna interferencia .....	21
Interferencia .....	21
Prenos/křížová kontaminácia .....	22
Presnosť rozboru .....	22
<b>Literatúra</b> .....	<b>24</b>
<b>Kontaktné údaje a história revízií</b> .....	<b>25</b>

## Všeobecné informácie

### Určené použitie

Rozbor Panther Fusion™ MRSA je automatizovaný diagnostický test *in vitro*, ktorý využíva chemické princípy testu Invader Plus™ na kvalitatívnu detekciu a diferenciaciu DNA organizmu *Staphylococcus aureus* (SA) a meticilín rezistentného *Staphylococcus aureus* (MRSA) zo vzoriek nazálnych výterov. Rozbor je určený na použitie v systéme Panther Fusion na pomoc pri prevencii a kontrole infekcií MRSA/SA v zdravotníckych zariadeniach.

### Zhrnutie a vysvetlenie testu

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) sa považuje za súčasť normálnej ľudskej flóry a môže kolonizovať predné nosové dierky, hrdlo, perineum, slabiny a kožu.<sup>1</sup> Väčšina prenášačov je asymptomatická a kolonizujúce baktérie ochorenie nespôsobujú. V zdravotníckych zariadeniach však môžu byť infekcie *S. aureus* závažné alebo smrteľné. Invazívne príznaky infekcie *S. aureus* siahajú od miernych kožných infekcií (vredy a abscesy) až po bakteriémiu, sepsu, endokarditídu, osteomyelitídu a zápal pľúc.<sup>1</sup>

Rozšírené používanie β-laktámového antibiotika meticilínu, derivátu penicilínu, viedlo k vzniku baktérií rezistentných voči antibiotikám *S. aureus* označovaných ako meticilín-rezistentné *S. aureus* (MRSA). Rezistencia na antibiotiká u MRSA je do značnej miery podmienená expresiou génu *mecA*, ktorá je nesená mobilným genetickým prvkom známym ako stafylokoková chromozomálna kazeta *mec* (*SCCmec*). Gén *mecA* kóduje proteín viažuci penicilín 2a (PBP2a), enzým zapojený do syntézy bunkovej steny, ktorý je odolný voči inhibícii β-laktámovými antibiotikami.<sup>1</sup> Alternatívny gén s homológnym mechanizmom rezistencie, *mecC*, bol opísaný v niektorých kmeňoch *S. aureus* v roku 2011.<sup>2,3</sup> Rozbor Panther Fusion MRSA zisťuje prítomnosť *mecA* alebo *mecC*, ako aj miesto vloženia *SCCmec* v konzervovanom otvorenom čítacom rámci (*orfX*) v genóme *S. aureus*, ktorý je známy aj ako spojenie *orfX/SCCmec*.

Genetické excízie v rámci prvku *SCCmec* môžu viesť k nedostatku funkčného génu *mecA*, čoho výsledkom je takzvaný „variant prázdnej kazety“ prenášaný určitými látkami citlivými na meticilín *S. aureus* (MSSA), ktoré obsahujú cieľovú sekvenciu *orfX/SCCmec*, ale sú negatívne pre signály *mecA/mecC*. Koagulázovo-negatívne stafylokoky (CoNS), ako je *Staphylococcus epidermidis*, ktorý bežne kolonizuje kožu, môžu tiež niesť gén *mecA*<sup>4</sup>, ale nie sú nositeľmi *S. aureus*-špecifickej *orfX/SCCmec* cieľovej sekvencie spojenia. Aby sa predišlo falošne pozitívnym výsledkom z variantov „prázdnych kaziet“ alebo preparátov obsahujúcich zmiešané druhy stafylokokov<sup>5</sup>, rozbor Panther Fusion MRSA zisťuje prítomnosť súčasne oboch *mecA/mecC* a *orfX/SCCmec* cieľov spojenia na identifikáciu MRSA. Rozbor Panther Fusion MRSA deteguje aj variant GAPDH špecifický pre *S. aureus*, a teda dokáže rozlíšiť kmene citlivé na lieky od kmeňov rezistentných na lieky.

MRSA sa v EÚ považuje za významnú príčinu infekcií spojených so zdravotnou starostlivosťou (HAI).<sup>6</sup> V dôsledku svojej vysoko invazívnej povahy a obmedzenej náchylnosti na liečbu predstavuje MRSA obrovskú klinickú záťaž s vysokou morbiditou a mortalitou.<sup>7</sup> Vzhľadom na vysokú prevalenciu medzi hospitalizovanými pacientmi je presná a rýchla identifikácia MRSA nevyhnutná na začatie účinnej antimikrobiálnej liečby a spomalenie šírenia infekcií MRSA.<sup>8</sup> Molekulárne metódy na detekciu MRSA boli zavedené ako rýchlejšia alternatíva k tradičným, časovo náročným kultivačným metódam.

## Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu

Súhrn údajov o bezpečnosti a účinnosti (Summary of Safety and Performance, SSP) je dostupný v Európskej databáze zdravotníckych pomôcok (Eudamed), kde je prepojený s identifikátormi pomôcky (Základné UDI-DI). Dokument SSP pre rozbor Panther Fusion MRSA nájdete podľa základného jedinečného identifikátora pomôcky (BUDI): 54200455DIAGPFMRSADE.

## Princípy postupu

Systém Panther Fusion plne automatizuje spracovanie preparátov (lýza buniek, zachytenie nukleových kyselín, amplifikácia a detekcia) pre rozbor Panther Fusion MRSA. Ku každému preparátu sa automaticky pridá interná kontrola (IC-X) prostredníctvom pracovnej záchytnej reagentie Fusion-X (wFCR-X) na monitorovanie interferencie počas spracovania, amplifikácie a detekcie preparátu spôsobených zlyhaním reagentie alebo inhibičnými látkami.

**Poznámka:** Systém Panther Fusion pridáva IC-X k FCR-X. Po pridaní IC-X k FCR-X sa označuje ako wFCR-X.

**Spracovanie vzorky a záchyt nukleových kyselín:** Preparáty sa najprv inkubujú v alkalickrej reagentii (posilňovacia reagentia Panther Fusion Enhancer-X; FER-X), aby sa bunky lyzovali. Nukleová kyselina uvoľnená počas kroku lýzy hybridizuje s magnetickými časticami vo FCR-X. Záchytne častice sa oddelia od zvyškovej matrice preparátu v magnetickom poli sériou premývacích krokov s jemným detergentom. Zachytená nukleová kyselina sa potom eluuje z magnetických častíc pomocou reagentie s nízkou iónovou silou (elučný pufer Panther Fusion).

**Multiplexná PCR amplifikácia a detekcia Invader™:** Lyofilizovaná jednodávková reakčná základná zmes sa rekonštituuje s rekonštitučným purom Panther Fusion II a kombinuje sa s eluovanou nukleovou kyselinou v reakčnej skúmavke. Aby sa zabránilo odparovaniu počas reakcie Invader Plus, pridáva sa olejová reagentia Panther Fusion.

Reakcia Invader Plus je kombináciou polymerázovej reťazovej reakcie (PCR) a chemických látok Invader. Amplifikácia cieľa na základe PCR sa vyskytuje s doprednými a reverznými primermi špecifickými pre cieľ. Detekciu cieľa a tvorbu signálu zaisťujú chemické produkty Invader. V priebehu detekčnej fázy hybridizuje primárna neoznačená sonda a invazívny oligonukleotid na cieľovú DNA za vzniku ternárneho komplexu DNA, ktorý je rozpoznávaný a štiepený enzýmom Cleavase™. Táto štiepna reakcia uvoľňuje produkt štiepenia špecifický pre cieľ z primárnej sondy. Produkt štiepenia špecifický pre cieľ následne hybridizuje na príslušnú kazetu na prenos fluorescenčnej rezonančnej energie (FRET), čo vedie k ďalšej štepnej reakcii. Pri každom štiepení kazety FRET sa oddelí príslušný flouorofor a quecher, čím dochádza k zvýšeniu detegovateľného fluorescenčného signálu.<sup>9</sup> Rozbor využíva cieľovo špecifické primárne sondy a spárované kazety FRET so spektrálne odlišnými fluorofórmami pre *orfX/SCCmec*, *mecA/C*, glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenázu (GAPDH) a interné kontrolné ciele. Rozbor sa zameriava na izoformu GAPDH špecifickú pre *S. aureus*. Softvér rozboru Panther Fusion MRSA vypočítava výsledok prahu cyklu (Ct) z akumulovaného fluorescenčného signálu v každom fluorescenčnom kanáli na kvalitatívne určenie prítomnosti každého cieľa.

Ciele a zodpovedajúce fluorescenčné kanály použité v rozbere Panther Fusion MRSA sú uvedené v tabuľke nižšie:

Cieľ	Kanál
Spojenie <i>orfX/SCCmec</i>	FAM
Gén <i>mecA/C</i>	HEX
Gén GAPDH	ROX
Interná kontrola	RED677

### Varovania a bezpečnostné opatrenia

- A. Na diagnostické použitie *in vitro*.
- B. Na profesionálne použitie.
- C. Pozorne si prečítajte celý tento príbalový leták a Panther/Prevádzková príručka systému Panther Fusion.

### Súvisiace s laboratóriom

- D. Posilňovacia reagentia Panther Fusion-X (FER-X) je žieravá, škodlivá pri požití a spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.
- E. Tieto postupy môže vykonávať len personál adekvátne vyškolený ohľadom používania tohto rozboru a zaobchádzania s potenciálne infekčnými materiálmi. Ak dôjde k vyliatiu, okamžite miesto vydezinfikujte pomocou príslušných postupov pracoviska.
- F. Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto rozboru použite univerzálne opatrenia. Riaditeľ laboratória musí stanoviť správne metódy manipulácie a likvidácie. Tento diagnostický postup môžu vykonávať len osoby primerane vyškolené v zaobchádzaní s infekčnými materiálmi.<sup>10</sup>
- G. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- H. Pri manipulácii s preparátmi a reagentiami používajte jednorazové, bezpráškové rukavice, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii s preparátmi a reagentiami si dôkladne umyte ruky.
- I. Všetok materiál, ktorý príde do kontaktu s preparátmi a reagentiami, zlikvidujte v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi nariadeniami.

### Súvisiace so preparátmi


- J. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu vzorky. Stabilita vzoriek za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, sa nehodnotila.
- K. Počas manipulácie s preparátmi sa vyhnite krížovej kontaminácii. Preparáty môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny baktérií alebo iných organizmov. Uistite sa, že nádoby na preparáty sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez akékoľvek otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu s preparátmi.

- L. Odberovú súpravu ESwab nepoužívajte, ak je poškodená, a nepoužívajte ju po dátume expirácie.

### Súvisiace s rozborom

- M. Nepoužívajte reagenty a kontroly po dátume expirácie.
- N. Súčasti rozboru uchovávajte pri odporúčaných podmienkach na uchovávanie. Viac informácií nájdete v časti *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentami a Postup testovania systému Panther Fusion*.
- O. Nekombinujte žiadne reagenty ani tekutiny rozboru. Nedolievajte reagenty ani tekutiny; systém Panther Fusion overuje hladiny reagentov.
- P. Zabráňte kontaminácii reagentov mikróbmi a nukleázami.
- Q. Požiadavky na kontrolu kvality sa musia vykonávať v súlade s miestnymi, štátnymi a/alebo federálnymi predpismi alebo požiadavkami na akreditáciu a štandardnými postupmi kontroly kvality príslušného laboratória.
- R. Kazetu na rozbor nepoužívajte, ak skladovacie puzdro stratilo tesnenie alebo ak fólia kazety na rozbor nie je neporušená. V prípade, že k tomu dôjde, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Hologic.
- S. Nepoužívajte balenia kvapalín, ktoré sú poškodené alebo netesné. V takom prípade kontaktujte technickú podporu spoločnosti Hologic.
- T. S kazetami na rozbor zaobchádzajte opatrne. Kazety na rozbor nenechajte spadnúť ani ich neprevracajte. Vyhnite sa dlhodobému vystaveniu okolitému svetlu.
- U. Niektoré reagenty používané s rozborom Panther Fusion MRSA sú označené symbolmi rizika a bezpečnosti.

**Poznámka:** Informácie o nebezpečenstve odrážajú klasifikácie kariet bezpečnostných údajov (KBÚ) EÚ a Severnej Ameriky. Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v KBÚ pre jednotlivé regióny v knižnici kariet bezpečnostných údajov na adrese [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com). Bližšie informácie o symboloch nájdete vo vysvetlení symbolov na adrese [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).

Informácie o nebezpečenstve, EÚ	
	<b>Olej Panther Fusion</b> <b>POLYDIMETYLSILOXÁN 100 %</b>
	<b>VAROVANIE</b> H315 – Dráždi kožu H319 – Spôsobuje vážne podráždenie očí

	<b>Posilňovacia reagentia Panther Fusion-X (FER-X)</b> <b>HYDROXID LÍTNY, MONOHYDRÁT 5 – 10 %</b>
	<b>NEBEZPEČENSTVO</b> H302 – Škodlivý po požití H314 – Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí P260 – Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly P280 – Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre P303 + P361 + P353 – PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Odstráňte/vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku opláchnite vodou/sprchou P305 + P351 + P338 – PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní P310 – Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P280 – Noste ochranné okuliare/ochranu tváre
<b>Informácie o nebezpečenstvách, USA</b>	
	<b>Olej Panther Fusion</b> <b>POLYDIMETYLSILOXÁN 95 – 100 %</b>
	<b>VAROVANIE</b> H315 – Dráždi kožu H319 – Spôsobuje vážne podráždenie očí P264 – Po manipulácii si starostlivo umyte tvár, ruky a akúkoľvek exponovanú kožu. P280 – Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre P305 + P351 + P338 – PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní P337 + P313 – Ak podráždenie očí pretrváva: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P302 + P352 – PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom mydla a vody P332 + P313 – Ak sa objaví podráždenie pokožky, vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P362 – Kontaminovaný odev vyzlečte a vyperte pred opakovaným použitím.
	<b>Posilňovacia reagentia Panther Fusion-X (FER-X)</b> <b>HYDROXID LÍTNY, MONOHYDRÁT 5 – 10 %</b>
	<b>NEBEZPEČENSTVO</b> H302 – Škodlivý po požití H314 – Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí P264 – Po manipulácii si starostlivo umyte tvár, ruky a akúkoľvek exponovanú kožu. P270 – Pri používaní výrobku nejedzte, nepite ani nefajčite. P260 – Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly P280 – Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre P305 + P351 + P338 – PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní P310 – Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P303 + P361 + P353 – PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Odstráňte/vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku opláchnite vodou/sprchou P363 – Kontaminovaný odev pred ďalším použitím vyperte. P304 + P340 – PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. P310 – Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P301 + P312 – PO POŽITÍ: Pri zdravotných problémoch volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára P330 – Vypláchnite ústa P301 + P330 + P331 – PO POŽITÍ: vypláchnite ústa. Nevyvolávajte zvracanie. P405 – Uchovávajte uzamknuté. Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadu

**Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami**

A. Nasledujúca tabuľka uvádza požiadavky na skladovanie a manipuláciu s týmto rozborom.

Reagencia	Uskladnenie neotvorených balení	Stabilita v prístroji/stabilita po otvorení <sup>1</sup>	Uskladnenie otvorených balení
Kazeta Panther Fusion MRSA Assay Cartridge	2 °C až 8 °C	60 dní	2 °C až 8 °C <sup>2</sup>
Záchytná reagencia Panther Fusion-X (FCR-X)	15 °C až 30 °C	30 dní	15 °C až 30 °C
Posilňovacia reagencia Panther Fusion-X (FER-X)	15 °C až 30 °C	30 dní	15 °C až 30 °C
Interná kontrola Panther Fusion-X (IC-X)	2 °C až 8 °C	(Vo wFCR-X)	Neuplatňuje sa
Elučný pufer Panther Fusion	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Olej Panther Fusion	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Rekonštitučný pufer Panther Fusion II	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Pozitívna kontrola Panther Fusion MRSA	2 °C až 8 °C	Jednorazová liekovka	Nerelevantné – na jedno použitie
Negatívna kontrola Panther Fusion II	2 °C až 8 °C	Jednorazová liekovka	Nerelevantné – na jedno použitie

Po vybratí reagensí zo systému Panther Fusion ich okamžite vráťte do príslušných skladovacích teplôt.

<sup>1</sup> Stabilita v prístroji sa začína v čase, keď je reagencia umiestnená do systému Panther Fusion pre kazetu na rozbor Panther Fusion MRSA, FCR-X, FER-X and IC-X. Stabilita v prístroji pre rekonštitučný pufer Panther Fusion II, elučný pufer Panther Fusion a olejovú reagentiu Panther Fusion začína pri prvom použití balenia reagentie.

<sup>2</sup> Ak kazetu na rozbor vyberiete zo systému Panther Fusion, skladujte ju vo vzduchotesnej nádobe s vysúšadlom pri odporúčanej skladovacej teplote.

B. wFCR-X a FER-X sú stabilné 60 dní, keď sú uzavreté a skladované pri teplote 15 °C až 30 °C. Neuchovávajú v chladničke.

C. Zlikvidujte všetky nepoužité reagentie, ktoré prekročili svoju stabilitu v prístroji.

D. Kontroly sú stabilné do dátumu uvedeného na liekovkách.

E. Zabráňte krížovej kontaminácii pri manipulácii s reagensiami a ich skladovaní.

F. **Reagentie nezmrazujte.**

## Odber preparátov a skladovanie

**Preparáty** – klinický materiál odobraný pacientovi a umiestnený do vhodného transportného systému. V prípade rozboru Panther Fusion MRSA ide o odberový a transportný systém ESwab.

**Vzorky** – predstavujú generickejší termín opisujúci akýkoľvek materiál na testovanie pomocou systému Panther Fusion vrátane preparátov a kontrol.

**Poznámka:** So všetkými preparátmi zaobchádzajte tak, ako keby obsahovali potenciálne infekčné činitele. Používajte všeobecné bezpečnostné opatrenia.

**Poznámka:** Dávajte pozor, aby ste sa počas krokov manipulácie s preparátmi vyhli skříženej kontaminácii. Napríklad použitý materiál zlikvidujte bez toho, aby ste prechádzali ponad otvorené skúmavky.

### A. Odber vzorky

Odoberte jeden preparát nosového výteru ESwab z oboch nosných dierok podľa štandardnej praxe príslušného zariadenia alebo použite nasledujúce pokyny:

1. Umyte si ruky a nasadte si čisté rukavice.
2. Otvorte obal tampónu a vyberte tampón z obalu.
3. Opatrne vložte časť vatového tampónu do nosovej dierky pacienta.
4. Jemne zatlačte a 3- až 5-krát otáčajte tampón po vnútornej strane nosovej dierky.
5. Opakujte postup v druhej nosnej dierke rovnakou vatovou tyčinkou.

**Poznámka:** Aby ste predišli kontaminácii, dávajte pozor, aby ste sa nedotkli tampónu pod miestom zlomu.

6. Otvorte skúmavku obsahujúcu 1 ml tekutiny Amies, vložte tampón na vzorku do skúmavky a zlomte drienok tampónu v mieste zlomu.
7. Znova uzavrite skúmavku a zvyšnú časť tampónu zlikvidujte.
8. V prípade potreby označte skúmavku.
9. Odstráňte rukavice a umyte si ruky.

**Poznámka:** Ak sa tekutina Amies rozleje pred vložením tampónu do skúmavky, vložte tampón na preparát do novej skúmavky obsahujúcej 1 ml tekutiny Amies. Ak sa skúmavka po vložení tampónu do skúmavky rozleje, odoberte nový preparát výteru z nosa.

### B. Prevoz a skladovanie preparátov pred testovaním

Po odbere preparát prepravte a skladujte v skúmavke maximálne 48 hodín pri teplote 15 °C až 30 °C alebo maximálne 5 dní pri teplote 2 °C až 8 °C.

### C. Uchovávanie preparátov po testovaní

1. Umiestnite skúmavky s preparátmi do stojana na skúmavky.
2. Nasadte nový uzáver na testované preparáty.
3. Ak je potrebné odoslať testované preparáty, odstráňte preniknuteľný uzáver a nahraďte ho nepreniknuteľným uzáverom. Počas prepravy dodržiavajte podmienky skladovania preparátov podľa popisu v časti *Prevoz a skladovanie preparátov pred testovaním*.

**Poznámka:** Preparáty sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi usmerneniami týkajúcimi sa prepravy.

## Systém Panther Fusion

### Poskytnuté reagensy a materiály

#### Balenie rozboru

Komponenty <sup>1</sup>	Kat. Č.	Skladovanie
<b>Kazety na rozbor Panther Fusion MRSA, 96 testov</b> Kazeta na rozbor Panther Fusion MRSA, 12 testov, 8 v balení	PRD-04803	2 °C až 8 °C
<b>Kontroly rozboru Panther Fusion MRSA</b> Skúmavka s pozitívnou kontrolou Panther Fusion MRSA, 5 v balení Skúmavka s negatívnou kontrolou Panther Fusion II, 5 v balení	PRD-04805	2 °C až 8 °C
<b>Interná kontrola Panther Fusion-X, 960 testov</b> Skúmavka s internou kontrolou Panther Fusion-X, 4 v balení	PRD-04476	2 °C až 8 °C
<b>Extrakčná reagentia Panther Fusion-X, 960 testov</b> Fľaša so zachytanou reagentiou Panther Fusion-X, 240 testov, 4 v balení Fľaša s posilňovacou reagentiou Panther Fusion-X, 240 testov, 4 v balení	PRD-04477	15 °C až 30 °C
<b>Elučný pufer Panther Fusion, 2 400 testov</b> Balenie elučného pufru Panther Fusion, 1 200 testov, 2 v balení	PRD-04334	15 °C až 30 °C
<b>Rekonštitučný pufer Panther Fusion II, 1 920 testov</b> Rekonštitučný pufer Panther Fusion II, 960 testov, 2 v balení	PRD-04804	15 °C až 30 °C
<b>Olejová reagentia Panther Fusion, 1 920 testov</b> Olejová reagentia Panther Fusion, 960 testov, 2 v balení	PRD-04335	15 °C až 30 °C

<sup>1</sup> Komponenty je možné objednať aj v nasledujúcich balíkoch:

Univerzálna súprava kvapalín Panther Fusion, PRD-04430, obsahuje po 1 ks olejový pufer Panther Fusion a elučný pufer Panther Fusion.

### Potrebné materiály dostupné samostatne

**Poznámka:** Materiály dostupné od spoločnosti Hologic majú uvedené katalógové čísla, pokiaľ nie je uvedené inak.

Materiál	Kat. Č.
Systém Panther	303095
Aktualizácia modulu Panther Fusion	PRD-04173
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Súprava s testovacími tekutinami Aptima (premývací roztok Aptima, pufer na deaktiváciu tekutinu Aptima a olejová reagentia Aptima)	303014 (1 000 testov)
Viacskúmavkové jednotky (MTU)	104772-02
Súprava odpadových vriec Panther	902731
Kryt odpadkového koša Panther	504405
Alebo súpravu chodu systému Panther pre rozbor v reálnom čase obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkových košov a tekutiny na rozbor	PRD-03455 (5 000 testov)

Materiál	Kat. Č.
Alebo súprava chodu systému Panther (pri spracovávaní rozborov TMA súbežne s rozborami Panther Fusion) obsahuje jednotky MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkových košov, tekutiny na automatickú detekciu* a tekutiny na rozbor	303096 (5 000 testov)
Podnosy na skúmavky Panther Fusion, 1 008 testov, 18 podnosov v škatuli	PRD-04000
Špičky, 1 000 µl, filtrované, vodivé, so snímaním tekutiny a jednorazové. Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Odberový a transportný systém Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab™) alebo ekvivalentný systém na odber a transport BD™ Liquid Amies Elution Swab (ESwab)	480C alebo 480CE (Copan) 220245 (Becton Dickinson)
Prepichovacie uzávery Aptima	105668
Náhradné neprepichovateľné uzávery (voliteľné)	103036A
Náhradné uzávery fliaš s extrakčnou reagensiou	CL0040
Vortexová miešačka	–
Bielidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 M až 1,16 M) roztok chlórnanu sodného	–
Jednorazové bezpráškové rukavice	–

\*Potrebné len pre rozbor Panther Aptima TMA.

## Postup testovania systému Panther Fusion

**Poznámka:** Ďalšie informácie ohľadom postupov si pozrite v Panther/Prevádzková príručka systému Panther Fusion.

### A. Príprava pracovnej oblasti

1. Pracovné plochy utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite deionizovanou (DI) vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Zakryte povrch pracovného stola čistými absorpčnými krytmi na laboratórny stôl podlepenými plastom.

### B. Príprava reagentie

1. Vyberte fľaše IC-X, FCR-X a FER-X z úložiska.
2. Otvorte fľaše IC-X, FCR-X a FER-X a zlikvidujte uzávery. Otvorte dvierka TCR vo vrchnej časti systému Panther Fusion.
3. Umiestnite fľaše IC-X, FCR-X a FER-X do príslušných pozícií na karuseli TCR.
4. Zatvorte dvierka TCR.

**Poznámka:** Systém Panther Fusion pridáva IC-X do fľaše FCR-X. Po pridaní IC-X k FCR-X sa označuje ako wFCR-X. Ak sú wFCR-X a FER-X odstránené zo systému, použite nové uzávery a ihneď ich uskladnite podľa správnych skladovacích podmienok.

### C. Manipulácia s preparátmi

1. Každý preparát 5 sekúnd vortexujte. Skúmavku neprevracajte.
2. Odstráňte uzáver skúmavky a tampón zo skúmavky.
3. Uzáver skúmavky a tampón zlikvidujte podľa laboratórnych postupov.
4. Nasadte na skúmavku preniknuteľný uzáver.
5. Pred vložením do stojana skontrolujte skúmavky na preparát. Ak skúmavka na preparáty obsahuje bubliny alebo má menší objem, ako sa zvyčajne pozoruje, jemne poklepte na spodok skúmavky, aby ste dostali obsah na spodok.

**Poznámka:** Aby ste sa vyhli chybe pri spracovaní, uistite sa, že objem preparátu je väčší ako 500 µl. Objem je dostatočný na vykonanie 2 reakcií Panther Fusion z preparátu odobratého pomocou odberovej súpravy ESwab.

### D. Príprava systému

Pokyny na nastavenie systému Panther Fusion vrátane vkladania vzoriek, reagentí, kaziet na rozbor a univerzálnych kvapalín nájdete v Panther/Prevádzková príručka systému Panther Fusion.

## Poznámky k postupu

### A. Kontroly

1. Pozitívnu kontrolu Panther Fusion MRSA a negatívnu kontrolu Panther Fusion II je možné vložiť do ľubovoľnej polohy stojana, do ktorejkoľvek dráhy rezervoára na vzorky v systéme Panther Fusion.
2. Po napipetovaní kontrolných skúmaviek a ich spracovaní na rozbor Panther Fusion MRSA sú platné až 30 dní (kontrolná frekvencia nakonfigurovaná správcom), pokiaľ nebudú kontrolné výsledky neplatné alebo sa nevloží nová šarža kazety na rozbor.
3. Pozitívna kontrola Panther Fusion MRSA a negatívna kontrola Panther Fusion II sa môžu zdať zakalené alebo obsahovať zrazeninu, ktorá nebude interferovať s výsledkami testu. Ak necháte kontroly pred spracovaním dosiahnuť izbovú teplotu, zrazenina sa rozpustí.  
**Kontroly nevortexujte.**
4. Každá skúmavka s kontrolou sa má otestovať jedenkrát.
5. Pipetovanie preparátu pacienta sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
  - a. platné výsledky pre kontroly sú zaregistrované v systéme.
  - b. Systém aktuálne spracováva súprava kontrol.

## Kontrola kvality

Softvér rozboru Panther Fusion MRSA môže zrušiť platnosť cyklu alebo výsledku preparátu, ak sa pri vykonávaní rozboru vyskytli problémy. Preparáty s neplatnými výsledkami je nutné otestovať znova.

### Negatívne a pozitívne kontroly

Aby sa vygenerovali platné výsledky, musí sa otestovať súprava kontrol rozboru. Jeden replikát pozitívnej kontroly Panther Fusion MRSA a negatívnej kontroly Panther Fusion II sa musí testovať vždy, keď sa do systému Panther Fusion vloží nová šarža kaziet na rozbor alebo keď vyprší platnosť aktuálnej súpravy platných kontrol pre aktívnu šaržu kaziet na rozbor.

Systém Panther Fusion je nakonfigurovaný tak, aby vyžadoval chod kontrol rozboru v správcom špecifikovanom intervale až do 30 dní. Softvér v systéme Panther Fusion upozorní operátora, keď sa vyžaduje kontrola rozboru, a nezačne nové testy, kým nebudú vložené kontroly rozboru a nezačnú sa spracovávať.

Počas spracovávania systém Panther Fusion automaticky overí kritériá prijateľnosti kontrol rozboru. Aby sa vygenerovali platné výsledky, kontroly rozboru musia prejsť sériou kontrol validity vykonaných systémom Panther Fusion.

Ak kontroly rozboru splnia všetky kontroly validity, považujú sa za platné počas časového intervalu špecifikovaného správcom. Po uplynutí časového intervalu kontroly rozboru systém Panther Fusion expiruje a pred testovaním akýchkoľvek nových preparátov čo vyžaduje nová súprava kontrol rozboru.

Ak niektorá z kontrol rozboru pri kontrolách validity zlyhá, systém Panther Fusion automaticky zneplatní zasiahnuté preparáty a vyžaduje testovanie nového súboru kontrol rozboru pred začiatkom analýzy akýchkoľvek nových preparátov.

### Interná kontrola

Počas automatizovaného spracovania preparátov v systéme Panther Fusion sa ku každému preparátu pridá interná kontrola. Počas spracovávania sa kritériá prijateľnosti internej kontroly automaticky overia softvérom systému Panther Fusion. Detekcia internej kontroly sa nevyžaduje u vzoriek, ktoré sú pozitívne pre akýkoľvek cieľ rozboru. Interná kontrola sa musí detegovať vo všetkých vzorkách, ktoré sú negatívne pre akýkoľvek cieľ rozboru. Preparáty, ktoré nespĺňajú tieto kritériá, sú hlásené ako neplatné. Všetky preparáty s neplatnými výsledkami je nutné otestovať znova.

Systém Panther Fusion je navrhnutý na presnú verifikáciu procesov, keď sa vykonávajú postupy podľa pokynov poskytnutých v tomto príbalovom letáku a *Panther/Prevádzková príručka systému Panther Fusion*.

## Interpretácia výsledkov

Softvér rozboru Panther Fusion MRSA automaticky určuje výsledky pre preparáty a kontroly. Výsledky pre SA a MRSA sa uvádzajú samostatne. Výsledok môže byť SA negatívny a MRSA negatívny, SA pozitívny a MRSA negatívny, SA pozitívny a MRSA pozitívny alebo neplatný. Preparáty s neplatnými výsledkami je nutné otestovať znova.

V tabuľke 1 sú uvedené možné výsledky so zodpovedajúcimi interpretáciami výsledkov.

Tabuľka 1: Interpretácia testu

orfX/SCCmec (FAM)	mecA/C (HEX)	GAPDH (ROX)	Interná kontrola (RED677)	Výsledok	
				MRSA	SA
+	+	+	+/-	Pozitívny	Pozitívny
+	-	+	+/-	Negatívny	Pozitívny
-	+	+	+/-	Negatívny	Pozitívny
-	-	+	+/-	Negatívny	Pozitívny
+	-	-	+/-	Negatívny	Negatívny
-	+	-	+/-	Negatívny	Negatívny
+	+	-	+/-	Negatívny	Negatívny
-	-	-	+	Negatívny	Negatívny
-	-	-	-	Neplatné	Neplatné

## Obmedzenia

- A. Použitie tohto rozboru je limitované na personál, ktorý je vyškolený ohľadom postupu. Ak nedodržíte tieto pokyny, môže to viesť k chybným výsledkom.
- B. Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu preparátov, transportu, uchovávaní a spracovania.
- C. Predchádzajte kontaminácii dodržiavaním správnej laboratórnej praxe a postupov špecifikovaných v tomto príbalovom letáku.
- D. Rozbor Panther Fusion MRSA bol validovaný len na použitie s preparátmi nazálnych výterov odobratých pomocou systému odberu a prepravy Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) alebo ekvivalentného systému odberu a transportu BD Liquid Amies Elution Swab (ESwab).
- E. Preparáty nosových výterov odoberajte podľa postupov uvedených v príbalovom letáku pre systém na odber a transport ESwab.
- F. Nové kmene MRSA alebo SA s mutáciami alebo polymorfizmami v oblastiach viažucich primér alebo sondu sa pomocou rozboru Panther Fusion MRSA nemusia detegovať. Vzorky pozitívne na ciele GAPDH a *mecA/mecC*, ale negatívne na cieľ spojenia *orfX/SCCmec* môžu predstavovať falošne negatívne výsledky v dôsledku nových alebo nezvyčajných typov MRSA SCCmec/MREJ. Takéto vzorky môžu vyžadovať ďalšiu diskrimináciu prostredníctvom alternatívnych metód detekcie.
- G. Rozbor Panther Fusion MRSA môže generovať falošne pozitívny výsledok MRSA pri testovaní nazálneho preparátu so zmiešanou infekciou, ktorá obsahuje koagulázovo-negatívne stafylokoky rezistentné na meticilín a prázdnu kazetu SA.
- H. *S. argenteus*, koagulázopozitívny druh *Staphylococcus*, ktorý je úzko príbuzný s rodom *S. aureus*, je zriedkavý, ale v rozbere Panther Fusion MRSA môže mať za následok falošne pozitívny výsledok.

## Výkonnosť rozboru systému Panther Fusion

### Reprodukovateľnosť rozboru

Reprodukovateľnosť rozboru Panther Fusion MRSA bola hodnotená na troch miestach pomocou 5-členného panelu reprodukovateľnosti. Testovanie sa vykonalo s jednou šaržou reagensov rozboru a celkom šiestimi operátormi (dvoma na každom pracovisku). Na každom mieste sa testovanie uskutočňovalo dvakrát denne (jeden cyklus na operátora) počas najmenej piatich dní. Každý chod mal tri replikáty každého člena panelu.

Členy panelu sú popísané v dokumente Tabuľka 2 spolu so zhrnutím zhody s očakávanými výsledkami pre každého člena panelu. Tabuľka 3 uvádza analýzu priemeru a variability medzi pracoviskami, medzi operátormi, medzi dňami, medzi cyklami a v rámci cyklov a úplné (celkové) hodnoty Ct.

Tabuľka 2: Percentuálna zhoda s očakávaným výsledkom

Člen panelu		% zhody			Celková zhoda
Opis	Koncentrácia	Pracovisko 1	Pracovisko 2	Pracovisko 3	
Stredne pozitívna MRSA	MRSA pri 2 – 3x LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Nízka pozitívna MRSA	MRSA pri 1 – 2x LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Stredne pozitívna SA	SA pri 2 – 3x LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Nízka pozitívna SA	SA pri 1 – 2x LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Negatívny	SNM nedoplnené	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)

LoD = limit detekcie, SNM = simulovaná nosná matrica.

Tabuľka 3: Variabilita hodnoty Ct

Člen panelu		Cieľ	Počet POS	Priemerná hodnota Ct	Medzi pracoviskami		Medzi operátormi		Medzi dňami		Medzi cyklami		V rámci cyklov		Spolu	
Opis	Koncentrácia				SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Stredne pozitívna MRSA	MRSA pri 2 – 3x LoD	<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
Nízka pozitívna MRSA	MRSA pri 1 – 2x LoD	<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
Stredne pozitívna SA	SA pri 2 – 3x LoD	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
Nízka pozitívna SA	SA pri 1 – 2x LoD	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
Negatívny	Iba SNM (nedoplnené)	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 = prah cyklu, CV = variačný koeficient, LoD = limit detekcie, POS = pozitívny, SD = štandardná odchýlka, SNM = simulovaná názálna matrica.

## Klinický výkon

Klinický výkon sa hodnotil porovnaním výsledkov rozboru Panther Fusion MRSA s výsledkami referenčného rozboru testu nukleových kyselín (NAT) IVD.

Preparáty nosového výteru sa odobrali v americkej nemocnici pomocou transportného systému Copan ESwab liquid Amies. Alikvotná časť preparátu sa testovala pomocou referenčného rozboru IVD NAT. Zvyšný preparát sa potom zmrazil, odoslal spoločnosti Hologic a testoval pomocou rozboru Panther Fusion MRSA.

Celkovo bolo testovaných 805 preparátov na SA a MRSA pomocou rozboru Panther Fusion MRSA a referenčného rozboru.

V porovnaní s referenčnou metódou bola citlivosť a špecificita rozboru Panther Fusion MRSA 95,6 % a 96,8 % pri detekcii MRSA (Tabuľka 4) a 95,9 % a 95,7 % pri detekcii SA (Tabuľka 5).

Okrem toho aspoň jedna recenzovaná štúdia z vedeckej literatúry vyhodnotila klinický výkon rozboru Panther Fusion MRSA použitím 434 vzoriek názálnych preparátov Eswab odobraných v nemocnici v Lyone vo Francúzsku. Celková zhoda medzi primárnymi kultivačnými metódami a testovaním MRSA Panther Fusion bola pred analýzou rozdielov 88 % (n = 382/434). Po ďalšej analýze nezhodných vzoriek obohatenou kultúrou a klinicky overeným testom nukleových kyselín bola zhoda Panther Fusion s konsenzuálnym výsledkom stanoveným pomocou kultivačných a molekulárnych referenčných metód 97,5 % pre detekciu SA (n = 423/434;  $\kappa$  = 0,943; 95 % CI = 90,9 %; 97,6 %) a 97,9 % pre detekciu MRSA (n = 425/434;  $\kappa$  = 0,841; 95 % CI = 73,9 %; 94,4 %). Skúšajúci v štúdií dospeli k záveru, že vzhľadom na vynikajúcu zhodu s referenčnými metódami je rozbor Panther Fusion MRSA spoľahlivým nástrojom na rýchly skrining MRSA.<sup>11</sup>

Tabuľka 4: Výkonnosť rozboru Panther Fusion MRSA v porovnaní s referenčným rozborom na detekciu MRSA

MRSA	Referenčný rozbor		Spolu
	POS	NEG	
Rozbor Panther Fusion MRSA Assay	POS	109	131
	NEG	5 <sup>1</sup>	674
Spolu		114	805
<b>Citlivosť</b>	95,6 % (109/114) (95 % CI: 90,1 % – 98,1 %)		
Špecificita	96,8 % (669/691) (95 % CI: 95,2 % – 97,9 %)		
PPV	83,2 % (109/131) (95 % CI: 75,9 % – 88,6 %)		
NPV	99,3 % (669/674) (95 % CI: 98,3 % – 99,7 %)		
Percentuálna zhoda	96,6 % (778/805) (95 % CI: 95,2 % – 97,7 %)		

NEG = negatívne, NPV = negatívna prediktívna hodnota, POS = pozitívne, PPV = pozitívna prediktívna hodnota.

<sup>1</sup> Preparáty generujúce nezhodné výsledky testu MRSA medzi rozborom Panther Fusion MRSA a referenčným rozborom boli ďalej hodnotené pomocou kultivačnej metódy obohatenia.

Z 22 falošne pozitívnych vzoriek rozboru Panther Fusion MRSA na MRSA sa zistilo, že 12 bolo pozitívnych na MRSA po nezhodnom rozlíšení obohatenej kultúry.

Z 5 falošne negatívnych vzoriek rozboru Panther Fusion MRSA na MRSA sa zistilo, že 4 boli negatívne na MRSA po nezhodnom rozlíšení obohatenej kultúry.

Tabuľka 5: Výkonnosť rozboru Panther Fusion MRSA v porovnaní s referenčným rozborom na detekciu SA

SA	Referenčný rozbor		Spolu
	POS	NEG	
Rozbor Panther Fusion MRSA Assay	POS	234	258
	NEG	10 <sup>1</sup>	547
Spolu		244	805
<b>Citlivosť</b>	95,9 % (234/244) (95 % CI: 92,6 % – 97,8 %)		
Špecificita	95,7 % (537/561) (95 % CI: 93,7 % – 97,1 %)		
PPV	90,7 % (234/258) (95 % CI: 86,5 % – 93,7 %)		
NPV	98,2 % (537/547) (95 % CI: 96,7 % – 99,0 %)		
Percentuálna zhoda	95,8 % (771/805) (95 % CI: 94,2 % – 97,0 %)		

NEG = negatívne, NPV = negatívna prediktívna hodnota, POS = pozitívne, PPV = pozitívna prediktívna hodnota.

<sup>1</sup> Preparáty generujúce nezhodné výsledky testu SA medzi rozborom Panther Fusion MRSA a referenčným rozborom boli ďalej hodnotené pomocou kultivačnej metódy obohatenia.

Z 24 falošne pozitívnych vzoriek rozboru Panther Fusion SA na SA sa zistilo, že 11 bolo pozitívnych na MRSA po nezhodnom rozlíšení obohatenej kultúry.

Z 10 falošne negatívnych vzoriek rozboru Panther Fusion SA na SA sa zistilo, že 7 bolo negatívnych na MRSA po nezhodnom rozlíšení obohatenej kultúry.

## Analytická citlivosť

95 % intervaly spoľahlivosti pre limit detekcie (LoD) MRSA a SA pomocou rozboru Panther Fusion MRSA boli stanovené testovaním simulovanej nosovej matrice (SNM) s viacerými koncentráciami s dvoma kmeňmi MRSA a jedným kmeňom SA. Testovalo sa 21 replikátov s tromi šaržami reagensov pri každej koncentrácii, celkom 63 replikátov. Cieľové špecifické koncentrácie LoD boli stanovené analýzou Probit a overené testovaním ďalších  $\geq 20$  replikátov s jednou šaržou reagensu. Získané CFU/ml, ktoré predstavujú hodnotu LoD pre každý kmeň, sa potvrdili počítaním doštičiek (Tabuľka 6).

Tabuľka 6: Analytická citlivosť

Kmeň	Zdroj (ID)	Typ SCCmec	Limit detekcie (CFU/ml)
<i>S. aureus</i> (SA), Seattle 1945	ATCC (25923)	Nevzťahuje sa	1.833
Meticilín-rezistentný <i>S. aureus</i> (MRSA), NYBK2464	ATCC (BAA-41)	II	2.383
Meticilín-rezistentný <i>S. aureus</i> (MRSA), HPV107	ATCC (BAA-44)	I	1.183

## Analytická reaktivita (inkluzívnosť)

Na vyhodnotenie analytickej reaktivity rozboru Panther Fusion MRSA sa použil súbor predtým charakterizovaných a geograficky odlišných kmeňov MRSA a SA. Celkovo bolo testovaných 106 kmeňov MRSA a 22 kmeňov SA v SNM v blízkosti testovacej LoD.

Kmene MRSA testované rozborom Panther Fusion MRSA boli zozbierané z rôznych geografických lokalít v 27 rôznych krajinách a predstavovali niekoľko typov a podtypov SCCmec (I, II, III, IV, IVa-e, IVg-h, V, VI, VII, VIII, IX a XI) a niekoľko typov MREJ (i, ii, iii, iv, xii, xv, xviii a xxi). Medzi testovanými kmeňmi MRSA bol aj klon Bengal Bay (ST772). Minimálne inhibičné koncentrácie oxacilínu testovaných kmeňov MRSA sa pohybovali od nízkych po vysoké (od 0,5 do viac ako 256  $\mu\text{g/ml}$ ). Niektoré kmene MRSA a SA boli predtým charakterizované aj pomocou gélovej elektroforézy s pulzným poľom (PFGE) a testovali sa rôzne typy PFGE (USA100-1200 vrátane USA300-0114, CC130, WA-MRSA a Iberian). Testované kmene SA zahŕňali 9 kmeňov variantu prázdnej kazety a 8 hraničných kmeňov rezistentných na oxacilín *S. aureus* (BORSA).

Všetky testované kmene boli rozborom Panther Fusion MRSA správne identifikované ako MRSA alebo SA, čo dokazuje, že rozbor Panther Fusion MRSA správne identifikoval rôzne kmene meticilín-rezistentných *S. aureus* ako MRSA pozitívne a citlivé na meticilín *S. aureus* ako SA pozitívne a MRSA negatívne.

## Analytická špecifickosť

Analytická špecifickosť rozboru Panther Fusion MRSA bola hodnotená testovaním 95 necieľových organizmov bežne prítomných v nose (Tabuľka 7). Baktérie (77 kmeňov) a kvasinky (2 kmene) boli testované v koncentráciách  $10^6$  CFU/ml alebo IFU/ml alebo kópií/ml. Vírusy (16 kmeňov) boli testované v koncentráciách  $10^5$  PFU/ml. Každý organizmus bol pridaný k SNM a testovaný v prítomnosti a neprítomnosti MRSA alebo SA pri 3x LoD. Nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita. V prítomnosti organizmu nebola pozorovaná žiadna interferencia.

Tabuľka 7: Mikroorganizmy bežne sa vyskytujúce v nosových preparátoch a testované na krížovú reaktivitu

<b>Vírusy</b>		
Adenovírus typ 1	Vírus osýpok	Chrípka A H1N1
Adenovírus typ 7A	Vírus mumpsu	Vírus parainfluenzy typu 1
Cytomegalovírus	Vírus parainfluenzy typu 3	Vírus parainfluenzy typu 2
Enterovírus typu 68	Respiračný syncyciálny vírus typu B	Rhinovírus typu 1A
Ludský metapneumovírus (hMPV) 18 typu B2	Kmeň koronavírusu 229E	
Vírus chrípky typu B	Vírus Epstein a Barrovej	
<b>Baktérie a huby</b>		
<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)	

## Kompetitívna interferencia

Zmiešané infekcie MRSA s SA, MRSA so *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) a SA s MRSE boli hodnotené rozborom Panther Fusion MRSA testovaním cieľa rozboru (MRSA alebo SA) v blízkosti limitu detekcie v prítomnosti konkurenčného mikrobiálneho organizmu vo vysokej koncentrácii. Výsledky uvedené v dokumente Tabuľka 8 naznačujú, že citlivosť detekcie MRSA a SA nebola ovplyvnená zmiešanými infekciami za testovaných podmienok.

Tabuľka 8: Kompetitívna interferencia

Kompetitívny mikroorganizmus		Cieľ		Výsledok rozboru Panther Fusion MRSA	
Opis	Koncentrácia	Opis	Koncentrácia	MRSA	SA
SA	1,8x10 <sup>7</sup> CFU/ml	MRSA	3x LoD	+	+
MRSE	1,8x10 <sup>7</sup> CFU/ml	MRSA	3x LoD	+	+
MRSE	2,7x10 <sup>7</sup> CFU/ml	SA	3x LoD	-	+

CFU = jednotka tvoriaca kolónie, LoD = limit detekcie.

## Interferencia

Potenciálne interferujúce látky, ktoré môžu byť prítomné v preparátoch, boli hodnotené rozborom Panther Fusion MRSA. Klinicky relevantné koncentrácie viacerých endogénnych a exogénnych látok (Tabuľka 9) boli testované v neprítomnosti a prítomnosti MRSA a SA v blízkosti LoD.

Žiadna z látok v testovaných koncentráciách neovplyvnila výkon rozboru Panther Fusion MRSA.

Tabuľka 9: Potenciálne interferujúce látky

Typ	Látka	Aktívne zložky	Koncentrácia
Endogénne	Krv	100 % ľudská krv	5 % v/v
	Mucin	Hovädzí mucín zo submaxilárnej žľazy	0,5 % w/v
Voľnopredajné lieky	Afrin	0,05 % oxymetazolín hydrochlorid	15 % v/v
	Nosová hmla Dristan	0,05 % oxymetazolín hydrochlorid	15 % v/v
	Otrivin	0,1 % hydrochlorid xylometazolín	15 % v/v
	Soľný nosový sprej	0,65 % chlorid sodný (0,65 %)	15 % v/v
	Neo-synefrín	1,0 % fenylefrín hydrochlorid	15 % v/v
	Chloroseptická pastilka na hrdlo	0,4 % benzokaín (15 mg v 1 pastilke) a 0,3 % metanol (10 mg v 1 pastilke)	15 % w/v
	Nosový gél Zicam	0,05 % oxymetazolín hydrochlorid	15 % w/v
	Flonase	0,05 % flutikazón propionát	15 % v/v
	Nosový sprej NasalCrom	Sodná soľ kromolínu	15 % v/v

Tabuľka 9: Potenciálne interferujúce látky (pokračovanie)

Typ	Látka	Aktívne zložky	Koncentrácia
Lieky na predpis	Taro-Mupirocín, mupirocínová masť USP, 2 %	Mupirocin	0,5 mg/ml
	Relenza	5 mg zanamiviru	2,0 mg/ml
	Tobramycín	Tobramycín	4,5 mg/ml
	Flunisolidový nosový roztok USP, 0,025 %	Flunisolid	0,12 mg/ml
	Beconase AQ	Beklometazón	0,4 mg/ml

v/v = objem/objem, w/v = hmotnosť/objem.

### Prenos/križová kontaminácia

Prenos/križová kontaminácia sa hodnotila v deviatich samostatných cykloch na troch prístrojoch. Každý cyklus zahŕňal rozptýlené negatívne vzorky (SNM) a vysoko pozitívne vzorky (SNM obsahujúci  $5 \times 10^7$  CFU/ml MRSA). Miera prenosu bola 0,0 %.

### Presnosť rozboru

Presnosť rozboru Panther Fusion MRSA bola hodnotená pomocou umelých preparátov v LoD alebo blízko nej tromi operátormi v dvoch samostatných cykloch za deň, použitím troch šarží reagensí na troch prístrojoch Panther Fusion počas 35 dní.

Tabuľka 10 uvádza mieru pozitivity (%) a percentuálnu zhodu (95% CI). Tabuľka 11 uvádza analýzu priemeru a variability hodnôt Ct medzi prístrojmi, medzi operátormi, medzi šaržami, medzi dňami, medzi cyklami a v rámci cyklov a celkovú hodnotu Ct.

Tabuľka 10: Percentuálna zhoda s očakávaným výsledkom

Cieľ	Člen panelu		% pozitívnych pre cieľový typ (Pozitívne n/platné n)	% zhoda (95 % CI)
	Opis	Koncentrácia (v SNM)		
MRSA	Stredne pozitívna MRSA	MRSA pri 2 – 3x LoD	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7 – 100 %)
	Nízka pozitívna MRSA	MRSA pri 1 – 2x LoD	99,4 % (159/160)	99,4 % (96,5 – 99,9 %)
SA	Stredne pozitívna SA	SA pri 2 – 3x LoD	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7 – 100 %)
	Nízka pozitívna SA	SA pri 1 – 2x LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7 – 100 %)
Negatívny	Negatívny	Iba SNM (nedoplnené)	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7 – 100 %)

CI = interval spoľahlivosti, LoD = limit detekcie, SNM = simulovaná nosná matrica.

Tabuľka 11: Variabilita hodnoty Ct

Člen panelu	Cieľ	Počet POS	Priemerná hodnota Ct	Medzi prístrojmi		Medzi operátormi		Medzi šaržami		Medzi dňami		Medzi cyklami		V rámci cyklov		Spolu	
				SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Stredne pozitívna 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
Nízka pozitívna 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
Stredne pozitívna 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
Nízka pozitívna 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
Negatívny	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 = prah cyklu, CV = variačný koeficient, POS = pozitívny, SD = štandardná odchýlka.

## Literatúra

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., and Holmes, M.A. 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *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., and Coleman, D.C. 2011. Detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *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., and Friedrich, A.W. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill.* 15(41), pii=19688. Dostupné on-line: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19688>.
7. Ventola, C.L. 2015. The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. *Pharm Ther.* 40(4):277–283.
8. Bode, L.G.M., Kluytmans, J.A.J.W., Wertheim, H.F.L., et al. 2010. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med.* 362(1):9-17.
9. Allawi, H.T., Li, H., Sander, T., et al. 2006. Invader Plus method detects herpes simplex virus in cerebrospinal fluid and simultaneously differentiates types 1 and 2. *J Clin Microbiol.* 44(9), 3443-3447.
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. Dokument M29: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Webová stránka CLSI, <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Prezerané v septembri 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>.

## Kontaktné údaje a história revízií



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



Adresa austrálskeho zadávateľa:  
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd  
Macquarie Park NSW 2113



**Hologic BV**  
Da Vincielaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Emailovú adresu a telefónne číslo oddelenia technickej podpory a zákazníckych služieb danej krajiny, [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Tento produkt je určený na použitie len v oblasti humánnej diagnostiky in vitro.

V prípade závažnej udalosti informujte výrobcu a príslušný úradný orgán vo vašej krajine.

Hologic, Aptima, Cleavase, Invader, Invader Plus, Panther a Panther Fusion a príslušné logá sú ochranné známky a/alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách.

ESwab je ochranná známka spoločnosti Copan Diagnostics, Inc.

Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov amerických, ktoré sú uvedené na stránkach [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2017–2022 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-22789-3201 Rev. 001  
2022-06

História revízií	Dátum	Opis
AW-22789-001-Rev. 001	Jún 2022	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vytvorený návod na používanie rozboru Panther Fusion MRSA na základe AW-18028-001 Rev. 003 pre regulačnú zhodu s IVDR.</li> <li>Aktualizované zhrnutie a vysvetlenie informácií o teste, klinickom výkone, analytickej reaktivite (inkluzívnosti) a prenose/křížovej kontaminácii a časť Požadované a samostatne dostupné materiály.</li> <li>Aktualizované kontaktné informácie vrátane: zástupcu pre ES, označenia CE, informácií o zástupcovi pre Austráliu a oddelenia technickej podpory.</li> <li>Rôzne aktualizácie štýlu a formátovania.</li> </ul>