

MRSA Assay (Panther Fusion™ System)

Instrukcja użycia
Do zastosowania w diagnostyce *in vitro*
Tylko na eksport poza USA

SPIS TREŚCI

Informacje ogólne	2
Przeznaczenie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu	2
Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności	3
Zasady procedury	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi	8
Pobieranie i przechowywanie próbek	9
System Panther Fusion	10
Dostarczone odczynniki i materiały	10
Materiały wymagane i dostępne osobno	10
Procedura testu w systemie Panther Fusion	12
Uwagi dotyczące procedury	13
Kontrola jakości	14
Kontrole ujemne i dodatnie	14
Kontrola wewnętrzna	14
Interpretacja wyników	15
Ograniczenia	16
Skuteczność testu w systemie Panther Fusion	17
Powtarzalność testu	17
Skuteczność kliniczna	18
Czułość analityczna	20
Reaktywność analityczna (inkluzywność)	20
Swoistość analityczna	21
Zakłócenia konkurencyjne	23
Zakłócenia	23
Przenoszenie / zanieczyszczenie krzyżowe	24
Precyzja testu	24
Bibliografia	26
Dane kontaktowe i historia wersji	27

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Test Panther Fusion™ MRSA to zautomatyzowany test diagnostyczny *in vitro*, który wykorzystuje odczynniki Invader Plus™ do jakościowego wykrywania i różnicowania DNA bakterii *Staphylococcus aureus* (SA) i bakterii *Staphylococcus aureus* opornych na metycylinę (MRSA) w wymazach z nosa. Test jest przeznaczony do użycia z systemem Panther Fusion jako pomoc w zapobieganiu i kontrolowaniu infekcji MRSA/SA w placówkach opieki zdrowotnej.

Podsumowanie i objaśnienie testu

Bakteria *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) uważana jest za naturalną część flory ludzkiej i może kolonizować nozdrza przednie, gardło, krocze, pachwiny i skórę.¹ Większość nosicieli nie wykazuje objawów, a kolonizujące bakterie nie wywołują choroby. Jednak w placówkach opieki zdrowotnej zakażenia bakterią *S. aureus* mogą być poważne lub nawet śmiertelne. Objawy inwazyjnych zakażeń bakterią *S. aureus* obejmują łagodne zakażenia skóry (czyraki i ropnie) po bakteriemię, posocznicę, zapalenie wsierdzia, zapalenie kości i szpiku oraz zapalenie płuc.¹

Powszechne stosowanie metycyliny, antybiotyku β-laktamowego będącego pochodną penicyliny, doprowadziło do pojawienia się antybiotykoopornych szczepów *S. aureus* określanych jako szczepy *S. aureus* oporne na metycylinę (MRSA). Oporność na antybiotyki u MRSA jest w dużej mierze spowodowana przez ekspresję genu *mecA*, przenoszonego przez ruchomy element genetyczny występujący pod nazwą gronkowcowej kasety chromosomalnej *mec* (SCC*mec*). Gen *mecA* koduje białko wiążące penicylinę 2a (PBP2a), enzym uczestniczący w syntezie ściany komórkowej, który jest odporny na inhibicję ze strony antybiotyków β-laktamowych.¹ W 2011 r. u niektórych szczepów *S. aureus* opisano alternatywny i homologiczny gen mechanizmu oporności, *mecC*^{2,3}. Test Panther Fusion MRSA wykrywa gen *mecA* lub *mecC*, jak również miejsce insercji kasety SCC*mec* w konserwowanej otwartej ramce odczytu (*orfX*) genomu bakterii *S. aureus*, znane również jako połączenie (z ang. junction) *orfX*/SCC*mec*.

Usunięcia na poziomie genetycznym w obrębie elementu SCC*mec* mogą prowadzić do eliminacji funkcjonalnego genu *mecA*, a tym samym do powstawania tzw. „wariantu z pustą kaseta” (z ang. empty cassette variant) przenoszonego przez niektóre szczepy *S. aureus* wrażliwe na metycylinę (MSSA), zawierające sekwencję docelową *orfX*/SCC*mec*, ale ujemne względem sygnałów *mecA*/*mecC*. Gatunki gronkowców koagulazo-ujemnych (CoNS), takie jak *Staphylococcus epidermidis*, które powszechnie kolonizują skórę, mogą również nieść gen *mecA*⁴, ale nie niosą sekwencji docelowej połączenia *orfX*/SCC*mec* swoistej dla bakterii *S. aureus*. W związku z tym, aby uniknąć fałszywie dodatnich wyników generowanych przez warianty z „pustą kaseta” lub próbki zawierające mieszane gatunki gronkowców⁵, w celu identyfikacji MRSA test Panther Fusion MRSA jednocześnie wykrywa obecność zarówno genu *mecA*/*mecC*, jak i połączenia *orfX*/SCC*mec*. Test Panther Fusion MRSA wykrywa również wariant GAPDH specyficzny dla bakterii *S. aureus*, dzięki czemu umożliwia różnicowanie szczepów SA lekowrażliwych od lekoopornych.

Szczepy MRSA są uważane za istotną przyczynę zakażeń związanych z placówkami opieki zdrowotnej (HAI) na terenie UE.⁶ Ze względu na swoją wysoce inwazyjną naturę i ograniczoną podatność na leczenie, szczepy MRSA stanowią ogromne obciążenie kliniczne, powodując wysoką zachorowalność i śmiertelność.⁷ Z powodu wysokiej częstości występowania szczepów MRSA wśród hospitalizowanych pacjentów dokładna i szybka identyfikacja szczepów MRSA jest konieczna w celu wdrożenia skutecznej terapii przeciwdrobnoustrojowej i spowolnienia rozprzestrzeniania się zakażeń szczepami MRSA.⁸ Jako szybszą alternatywę dla tradycyjnych, czasochłonnych metod hodowlanych proponowane jest wprowadzenie molekularnych metod detekcji szczepów MRSA.

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności

SSP (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności, ang. Summary of Safety and Performance) jest dostępne w europejskiej bazie danych wyrobów medycznych (Eudamed), gdzie jest powiązane z identyfikatorami wyrobów (Basic UDI-DI). Dokument SSP dla testu Panther Fusion MRSA można odszukać, korzystając z następującego kodu BUDI (Basic Unique Device Identifier): 54200455DIAGPFMRSADE.

Zasady procedury

Przetwarzanie próbek (liza komórek, wychwytywanie kwasów nukleinowych, amplifikacja i detekcja) na potrzeby testu Panther Fusion MRSA jest wykonywane w systemie Panther Fusion w sposób w pełni zautomatyzowany. Do każdej próbki poprzez roboczy odczynnik wychwytyjący Fusion X (wFCR-X) automatycznie dodawana jest kontrola wewnętrzna (IC-X) umożliwiająca monitorowanie zakłóceń podczas przetwarzania próbki, amplifikacji i wykrywania powodowanych nieprawidłowościami związanymi z odczynnikami lub obecnością inhibitorów.

Uwaga: System Panther Fusion doda odczynnik IC-X do odczynnika FCR-X. Odczynnik powstały po dodaniu odczynnika IC-X do odczynnika FCR-X nazywany jest wFCR-X.

Przetwarzanie próbek i wychwytywanie kwasów nukleinowych: Próbkę najpierw są inkubowane w odczynniku alkalicznym (odczynnik wzmacniający Panther Fusion X; FER-X) w celu przeprowadzenia lizy komórek. Kwas nukleinowy uwalniany podczas etapu lizy hybryduje do cząstek magnetycznych w odczynniku FCR-X. Cząstki wychwytyjące są oddzielane od pozostałości matrycy próbki w polu magnetycznym poprzez serię etapów płukania łagodnym detergentem. Wychwycony kwas nukleinowy jest następnie eluowany z cząstek magnetycznych przy użyciu odczynnika o niskiej sile jonowej (bufor elucyjny Panther Fusion).

Amplifikacja podczas multipleksowej reakcji PCR i detekcja metodą Invader™:

Liofilizowana, pojedyncza porcja mieszaniny reakcyjnej Master Mix jest rekonstruowana przy użyciu buforu do rekonstrukcji Panther Fusion II, a następnie łączona z eluowanym kwasem nukleinowym w próbówce reakcyjnej. Aby zapobiec parowaniu podczas reakcji Invader Plus, dodawany jest odczynnik olejowy Panther Fusion.

Reakcja Invader Plus stanowi połączenie reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) i działania odczynników Invader. Amplifikacja sekwencji docelowych podczas reakcji PCR zachodzi w obecności swoistych starterów przednich i wstecznych. Wykrywanie cząsteczek szukanych i generowanie sygnału odbywa się za pomocą chemii Invader. Podczas fazy detekcji pierwotna, nieoznakowana sonda i tzw. „inwazyjny” oligonukleotyd hybrydują do szukanego DNA, tworząc trójskładnikowy kompleks DNA, rozpoznawany i rozszczepiany przez enzym Cleavase™.

Ta reakcja rozszczepienia uwalnia z sondy pierwotnej produkt rozszczepienia specyficzny dla danej cząsteczki szukanej. Specyficzny dla danej cząsteczki szukanej produkt rozszczepienia hybryduje następnie do odpowiedniej kasety FRET (transfer energii fluorochromu), co prowadzi do kolejnej reakcji rozszczepienia. Przy każdym rozszczepieniu kasety FRET, odpowiedni fluorofor i pochłaniacz zostają rozdzielone, generując wzrost wykrywalnego sygnału fluorescencji.⁹ W teście wykorzystano sondy pierwotne specyficzne dla danej cząsteczki szukanej oraz sparowane kasety FRET z fluoroforami o odrębnej charakterystyce widmowej dla połączenia *orfX/SCCmec*, genu *mecA/C*, dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH) i kontroli wewnętrznej. Test jest ukierunkowany na izoformę GAPDH specyficzną dla bakterii *S. aureus*. Oprogramowanie testu Panther Fusion MRSA oblicza wynik w postaci cykli progowych (Ct) na podstawie skumulowanego sygnału fluorescencyjnego w każdym kanale fluorescencyjnym, co pozwala jakościowo określić obecność poszczególnych pozycji docelowych.

Poniższa tabela przedstawia pozycje docelowe oraz odpowiadające im kanały fluorescencyjne wykorzystywane w teście Panther Fusion MRSA:

Materiał docelowy	Kanał
Połączenie <i>orfX/SCCmec</i>	FAM
Gen <i>mecA/C</i>	HEX
Gen GAPDH	ROX
Kontrola wewnętrzna	RED677

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.
- C. Należy uważnie przeczytać całą ulotkę dołączoną do opakowania oraz *Podręcznik operatora systemu Panther / Podręcznik operatora systemu Panther Fusion*.

Kwestie związane z laboratorium

- D. Odczynnik wzmacniający Panther Fusion X (FER-X) jest żrący, szkodliwy po połknięciu i powoduje poważne oparzenia skóry i uszkodzenie oczu.
- E. Test ten powinien wykonywać jedynie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania tego testu oraz z zakresu postępowania z materiałem zakaźnym. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować, stosując odpowiednie procedury w miejscu pracy.

- F. Próbkki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium. Do wykonania opisywanej tutaj procedury diagnostycznej może być dopuszczony wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie postępowania z materiałami zakaźnymi.¹⁰
- G. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- H. Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić jednorazowe, bezpudrowe rękawiczki, okulary ochronne i fartuchy laboratoryjne. Po zakończeniu pracy z próbkami i odczynnikami należy umyć ręce.
- I. Wszystkie materiały, które miały kontakt z próbkami i odczynnikami należy usuwać zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi.

Kwestie dotyczące próbek

- J. Podczas transportu próbek należy utrzymywać właściwe warunki przechowywania, aby zapewnić integralność próbek. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- K. Nie dopuszczać do zanieczyszczenia krzyżowego podczas etapów pracy z próbkami. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie bakterii lub innych mikroorganizmów/wirusów. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie wchodziły we wzajemny kontakt oraz utylizować zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbkami.
- L. Zestawu do pobierania ESwab nie należy używać, jeśli jest uszkodzony ani po upływie daty ważności.

Kwestie dotyczące testu

- M. Nie używać odczynników i kontroli po upływie daty ważności.
- N. Składniki testu należy przechowywać w zalecanych warunkach przechowywania. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi* i *Procedura testu w systemie Panther Fusion*.
- O. Nie należy łączyć żadnych odczynników analitycznych ani płynów. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami; system Panther Fusion weryfikuje poziomy odczynników.
- P. Unikać zanieczyszczenia odczynników przez drobnoustroje i nukleazy.
- Q. Wymagania dotyczące kontroli jakości muszą być zgodnie z przepisami lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji i standardowych procedur kontroli jakości laboratorium.
- R. Nie wolno używać wkładu testowego, jeśli torebka do przechowywania utraciła szczelność lub jeśli folia wkładu testowego jest naruszona. Jeśli wystąpi którykolwiek z tych przypadków, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej Hologic.

- S. Nie należy używać pakietów płynów, jeśli są uszkodzone lub przeciekają. W razie wystąpienia takiego zdarzenia należy skontaktować się z działem pomocy technicznej Hologic.
- T. Należy postępować z wkładami testowymi w sposób ostrożny. Nie upuszczać ani nie odwracać wkładów testowych. Unikać dłuższego wystawiania na światło otoczenia.
- U. Niektóre odczynniki stosowane w teście Panther Fusion MRSA są oznaczone symbolami zagrożenia i bezpieczeństwa.

Uwaga: Stosowane informacje dotyczące zagrożeń odzwierciedlają klasyfikacje z kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheet, SDS) obowiązujące w Ameryce Północnej i UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla danych regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem www.hologicsds.com. Więcej informacji na temat symboli zawiera legenda symboli dostępna pod adresem www.hologic.com/package-inserts.

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
	Olej Panther Fusion POLIDIMETYLOSILOKSAN 100% OSTRZEŻENIE H315 — Działa drażniąco na skórę H319 — Działa drażniąco na oczy
	Odczynnik wzmacniający Panther Fusion X (FER-X) WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 5–10% NIEBEZPIECZEŃSTWO H302 — Działa szkodliwie po połknięciu H314 — Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu P260 — Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy P280 — Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy P303 + P361 + P353 — W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody lub prysznicem P305 + P351 + P338 — W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie P310 — Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem P280 — Stosować ochronę oczu / ochronę twarzy
	
Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami USA	
	Olej Panther Fusion POLIDIMETYLOSILOKSAN 95–100% OSTRZEŻENIE H315 — Działa drażniąco na skórę H319 — Działa drażniąco na oczy P264 — Dokładnie umyć twarz, ręce i każdą odsłoniętą skórę po użyciu P280 — Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy P305 + P351 + P338 — W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie P337 + P313 — W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza P302 + P352 — W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ NA SKÓRĘ: Umyć dużą ilością wody z mydłem P332 + P313 — W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza P362 — Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem

**Odczynnik wzmacniający Panther Fusion X (FER-X)****WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 5–10%****NIEBEZPIECZEŃSTWO**

H302 — Działa szkodliwie po połknięciu

H314 — Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu

P264 — Dokładnie umyć twarz, ręce i każdą odsłoniętą skórę po użyciu

P270 — Nie jeść, nie pić ani nie palić podczas używania produktu

P260 — Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy

P280 — Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy

P305 + P351 + P338 — W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie

P310 — Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem

P303 + P361 + P353 — W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody lub prysznicem

P363 — Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem

P304 + P340 — W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania

P310 — Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem

P301 + P312 — W PRZYPADKU POŁKNIECIA: W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem

P330 — Wypłukać usta

P301 + P330 + P331 — W PRZYPADKU POŁKNIECIA: wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów

P405 — Przechowywać pod zamknięciem

Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

A. Poniższa tabela zawiera wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania tego testu.

Odczynnik	Przechowywanie nieotwartych odczynników	Stabilność odczynnika w aparacie / po otwarciu ¹	Przechowywanie otwartych odczynników
Wkład testowy Panther Fusion MRSA	od 2°C do 8°C	60 dni	od 2°C do 8°C ²
Odczynnik wychwytyjący Panther Fusion X (FCR-X)	od 15°C do 30°C	30 dni	od 15°C do 30°C
Odczynnik wzmacniający Panther Fusion X (FER-X)	od 15°C do 30°C	30 dni	od 15°C do 30°C
Kontrola wewnętrzna Panther Fusion X (IC-X)	od 2°C do 8°C	(We wFCR-X)	Nie dotyczy
Bufor elucyjny Panther Fusion	od 15°C do 30°C	60 dni	od 15°C do 30°C
Olej Panther Fusion	od 15°C do 30°C	60 dni	od 15°C do 30°C
Bufor do przygotowania odczynników Panther Fusion II	od 15°C do 30°C	60 dni	od 15°C do 30°C
Kontrola dodatnia Panther Fusion MRSA	od 2°C do 8°C	Fiolka jednorazowego użytku	Nie dotyczy — do jednorazowego użytku
Kontrola ujemna Panther Fusion II	od 2°C do 8°C	Fiolka jednorazowego użytku	Nie dotyczy — do jednorazowego użytku

Po wyjęciu odczynników z systemu Panther Fusion należy natychmiast ponownie umieścić je w miejscu o temperaturze odpowiedniej do ich przechowywania.

¹ Stabilność odczynnika w aparacie rozpoczyna się od momentu umieszczenia odczynnika w systemie Panther Fusion dla wkładu testowego Panther Fusion MRSA oraz odczynników FCR-X, FER-X i IC-X. Stabilność odczynnika w aparacie dla bufora do rekonstrukcji Panther Fusion II, bufora elucyjnego Panther Fusion i odczynnika olejowego Panther Fusion rozpoczyna się od momentu pierwszego użycia pakietu odczynników.

² Po usunięciu wkładu testowego z systemu Panther Fusion należy umieścić go w szczelnym opakowaniu ze środkiem suszącym, w miejscu o zalecanej temperaturze dla przechowywania.

- B. Odczynniki wFCR-X i FER-X są stabilne przez 60 dni, gdy są zamknięte i przechowywane w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie należy przechowywać ich w lodówce.
- C. Należy utylizować wszelkie nieużyte odczynniki, których termin stabilności w aparacie minął.
- D. Kontrole są stabilne do momentu upłynięcia daty wskazanej na fiolkach.
- E. W trakcie obchodzenia się z odczynnikami i ich przechowywania unikać zanieczyszczenia krzyżowego.
- F. **Nie zamrażać odczynników.**

Pobieranie i przechowywanie próbek

Materiał do badań — Materiał kliniczny pobrany od pacjenta i umieszczony w odpowiednim systemie transportowym. W przypadku testu Panther Fusion MRSA jest to system do pobierania i transportowania ESwab.

Próbki — Jest to bardziej ogólny termin opisujący każdy materiał przeznaczony do badań w systemie Panther Fusion, w tym materiał do badań i kontrole.

Uwaga: *Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.*

Uwaga: *Starać się unikać zanieczyszczenia krzyżowego w czasie etapów pracy z materiałem. Należy na przykład wyrzucać zużyty materiał bez przemieszczania go nad otwartymi próbkami.*

A. Pobieranie próbek

Z obu nozdrzy należy pobrać jedną próbkę przy użyciu systemu ESwab, postępując zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce, lub zastosować poniższe wytyczne:

1. Umyć ręce i założyć czyste rękawiczki.
2. Otworzyć opakowanie wymazówki i wyjąć ją z opakowania.
3. Ostrożnie wprowadzić wyścielaną część wymazówki do nozdrza pacjenta.
4. Delikatnie docisnąć wymazówkę do wnętrza nozdrza i obrócić nią od 3 do 5 razy.
5. Powtórzyć proces w drugim nozdrzu, używając tej samej wymazówki.

Uwaga: *Aby uniknąć zanieczyszczenia, należy uważać, aby nie dotknąć trzonka wymazówki poniżej punktu przełamania.*

6. Otworzyć próbkę zawierającą 1 ml podłoża płynnego Amies i umieścić wymazówkę z próbką w próbce. Złamać trzonek wymazówki w punkcie przełamania.
7. Zamknąć próbkę i wyrzucić pozostałą część trzonka wymazówki.
8. Jeśli to konieczne, odpowiednio oznaczyć próbkę.
9. Zdjąć rękawiczki i umyć ręce.

Uwaga: *Jeśli przed umieszczeniem wymazówki w próbce dojdzie do rozlania podłoża płynnego Amies, umieścić wymazówkę z próbką w nowej próbce zawierającej 1 ml podłoża płynnego Amies. Jeśli do rozlania zawartości próbki dojdzie po umieszczeniu w niej wymazówki, pobrać nowy wymaz z nosa.*

B. Transport i przechowywanie próbek przed wykonaniem testów

Po pobraniu próbkę można transportować i przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C przez maksymalnie 48 godzin lub w temperaturze od 2°C do 8°C przez maksymalnie 5 dni.

C. Przechowywanie próbek po wykonaniu testu

1. Umieścić próbki z próbkami w pozycji pionowej w statywie.
2. Nałożyć nowe nakrętki na przebadane próbki.
3. Jeśli badane próbki muszą zostać przetransportowane w inne miejsce, należy zdjąć przepuszczalne nakrętki i zamknąć próbki nakrętkami nieprzepuszczalnymi. Podczas transportu należy utrzymywać warunki przechowywania próbek opisane w sekcji *Transport i przechowywanie próbek przed wykonaniem testów*.

Uwaga: *Próbki należy transportować zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami dotyczącymi transportu.*

System Panther Fusion

Dostarczone odczynniki i materiały

Opakowanie testu

Elementy ¹	Nr kat.	Przechowywanie
Wkłady testowe Panther Fusion MRSA, 96 testów Wkłady testowe Panther Fusion MRSA, 12 testów, pudełka po 8 szt.	PRD-04803	od 2°C do 8°C
Kontrole do testu Panther Fusion MRSA Probówka z kontrolą dodatnią Panther Fusion MRSA, pudełka po 5 szt. Probówka z kontrolą ujemną Panther Fusion II, pudełka po 5 szt.	PRD-04805	od 2°C do 8°C
Kontrole wewnętrzne Panther Fusion X, 960 testów Probówka z kontrolą wewnętrzną Panther Fusion X, pudełka po 4 szt.	PRD-04476	od 2°C do 8°C
Odczynnik ekstrakcyjny Panther Fusion X, 960 testów Butelka odczynnika wychwytyjącego Panther Fusion X, 240 testów, pudełka po 4 szt. Butelka odczynnika wzmacniającego Panther Fusion X, 240 testów, pudełka po 4 szt.	PRD-04477	od 15°C do 30°C
Bufor elucyjny Panther Fusion, 2400 testów Opakowanie buforów elucyjnych Panther Fusion, 1200 testów, pudełka po 2 szt.	PRD-04334	od 15°C do 30°C
Bufor do rekonstrukcji Panther Fusion II, 1920 testów Bufor do rekonstrukcji Panther Fusion II, 960 testów, pudełka po 2 szt.	PRD-04804	od 15°C do 30°C
Odczynnik olejowy Panther Fusion, 1920 testów Odczynnik olejowy Panther Fusion, 960 testów, pudełka po 2 szt.	PRD-04335	od 15°C do 30°C

¹ Elementy można również zamawiać w następujących pakietach:

Zestaw płynów uniwersalnych Panther Fusion, PRD-04430, zawiera po 1 oleju Panther Fusion i buforze elucyjnym Panther Fusion.

Materiały wymagane i dostępne osobno

Uwaga: Materiały o podanych numerach katalogowych są dostępne w firmie Hologic, o ile nie określono inaczej.

Materiał	Nr kat.
Panther System	303095
Rozszerzenie w formie modułu Panther Fusion	PRD-04173
System Panther Fusion	PRD-04172
Zestaw płynów do testu Aptima (Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima, odczynnik olejowy Aptima)	303014 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Oslona pojemnika na odpady Panther	504405

Material	Nr kat.
Albo zestaw wstępny do aparatu Panther System do testów wykonywanych w czasie rzeczywistym zawiera MTU, worki na odpady, osłonę worka na odpady, płyny do testu	PRD-03455 (5000 testów)
Albo zestaw wstępny do systemu Panther System (w przypadku wykonywania testów TMA równolegle z testami Panther Fusion) zawiera zestawy MTU, torby na odpady, osłony pojemnika na odpady, odczynnik do autodetekcji* i płyny do testów	303096 (5000 testów)
Tace na próbówki Panther Fusion, 1008 testów, 18 tac w pudełku	PRD-04000
Końcówki, 1000 µL z filtrami, przewodzące, z detekcją cieczy, jednorazowe. Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania informacji na temat dostępności produktu w wybranym regionie należy skontaktować się z odpowiednim przedstawicielem	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
System do pobierania i transportu próbek ESwab™ firmy Copan (Liquid Amies Elution Swab) lub równoważny system do pobierania i transportu próbek ESwab firmy BD™ (Liquid Amies Elution Swab)	480C lub 480CE (Copan) 220245 (Becton Dickinson)
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zapasowe nakrętki nieprzepuszczalne (opcjonalne)	103036A
Zapasowe zatyczki do butelek z odczynnikiem ekstrakcyjnym	CL0040
Wstrząsarka	—
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M)	—
Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	—

*Potrzebne jedynie dla testów Panther Aptima TMA.

Procedura testu w systemie Panther Fusion

Uwaga: Więcej informacji na temat procedury zawiera Podręcznik operatora systemu Panther / Podręcznik operatora systemu Panther Fusion.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie powinien zostać splukany wodą dejonizowaną. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię stołu czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.

B. Przygotowanie odczynnika

1. Wyjąć butelki z odczynnikami IC-X, FCR-X i FER-X z miejsca przechowywania.
2. Otworzyć butelki z odczynnikami IC-X, FCR-X i FER-X i wyrzucić nakrętki. Otworzyć drzwi odczynników TCR na górnej wnęce systemu Panther Fusion.
3. Umieścić butelki z odczynnikami IC-X, FCR-X i FER-X na odpowiednich pozycjach karuzeli TCR.
4. Zamknąć drzwi odczynników TCR.

Uwaga: System Panther Fusion doda odczynnik IC-X do butelki z odczynnikiem FCR-X. Odczynnik powstały po dodaniu odczynnika IC-X do odczynnika FCR-X nazywany jest wFCR-X. Jeżeli odczynniki wFCR-X i FER-X zostaną usunięte z systemu, należy zamknąć je za pomocą nowych nakrętek i natychmiast umieścić je w miejscu o odpowiednich warunkach do przechowywania.

C. Obchodzenie się z próbkami

1. Każdą próbkę wytrząsać przez 5 sekund. Nie obracać probówki do góry dnem.
2. Zdjąć nakrętkę probówki i wyjąć wymazówkę.
3. Wyrzucić nakrętkę probówki i wymazówkę zgodnie z odpowiednimi procedurami laboratoryjnymi.
4. Zamknąć probówkę przepuszczalną nakrętką.
5. Przed włożeniem do statywu sprawdzić probówki z próbkami. Jeśli probówka na próbki zawiera pęcherzyki powietrza lub ma mniejszą objętość niż zazwyczaj, należy delikatnie postukać w dno probówki, aby usunąć pęcherzyki powietrza, a zawartość probówki znalazła się na dnie.

Uwaga: Aby uniknąć błędów w trakcie przetwarzania, należy upewnić się, że objętość próbki jest większa niż 500 µl. Próbka pobrana przy użyciu zestawu do pobierania ESwab ma objętość wystarczającą do przeprowadzenia 2 reakcji Panther Fusion.

D. Przygotowanie systemu

Instrukcje dotyczące ustawiania systemu Panther Fusion, w tym ładowania próbek, odczynników, wkładów testowych i płynów uniwersalnych, znajdują się w Podręczniku operatora systemu Panther / Podręcznik operatora systemu Panther Fusion.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kontrole

1. Kontrolę dodatnią Panther Fusion MRSA i kontrolę ujemną Panther Fusion II można załadować w dowolnej pozycji na statywie, w dowolnym torze wnęki na próbki systemu Panther Fusion.
2. Po przeprowadzeniu pipetowania próbek kontrolnych i przetworzeniu ich dla potrzeb testu Panther Fusion MRSA pozostaną one aktywne przez maksymalnie 30 dni (częstotliwość kontroli konfigurowana jest przez administratora), chyba że wyniki kontroli będą nieprawidłowe lub załadowana zostanie nowa partia wkładów testowych.
3. Kontrola dodatnia Panther Fusion MRSA i kontrola ujemna Panther Fusion II mogą wydawać się mętne lub zawierać osad, który jednak nie będzie miał wpływu na wyniki testu. Pozostawienie kontroli w temperaturze pokojowej przed przetworzeniem umożliwi rozpuszczenie osadu. **Nie należy wytrząsać kontroli.**
4. Każdą próbkę kontroli można przetestować tylko raz.
5. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpoczyna się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
 - a. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kontroli.
 - b. Trwa przetwarzanie zestawu kontroli przez system.

Kontrola jakości

Jeśli podczas wykonywania testu wystąpią problemy, wynik testu lub próbki może zostać unieważniony przez oprogramowanie testu Panther Fusion MRSA. Próbki z nieważnymi wynikami należy ponownie poddać badaniu.

Kontrole ujemne i dodatnie

Aby wygenerować ważne wyniki, należy przetestować zestaw kontroli testu. Za każdym razem po załadowaniu nowej partii wkładów testowych do systemu Panther Fusion lub po upływie terminu przydatności bieżącego zestawu prawidłowych kontroli dla aktywnej partii wkładów testowych należy przeprowadzić test jednego powtórzenia dodatniej kontroli Panther Fusion MRSA i jednego powtórzenia ujemnej kontroli Panther Fusion II.

System Panther Fusion jest skonfigurowany w taki sposób, aby kontrole testów były wymagane w odstępach czasu określonych przez administratora, wynoszących maksymalnie 30 dni. Oprogramowanie systemu Panther Fusion ostrzega operatora, gdy wymagane są kontrole testów, i nie rozpoczyna nowych testów, dopóki kontrole testów nie zostaną załadowane i nie rozpoczną przetwarzania.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli testów są automatycznie weryfikowane przez system Panther Fusion. Aby wygenerować prawidłowe wyniki, kontrole testów muszą przejść serię kontroli ważności wykonywanych przez system Panther Fusion.

Jeśli kontrole testów przejdą wszystkie kontrole ważności, są uznawane za ważne przez określony przez administratora przedział czasu. Kiedy upłynie określony czas, system Panther Fusion wyłączy kontrole testów — wówczas konieczne będzie przetestowanie nowego zestawu kontroli testów przed rozpoczęciem przetwarzania jakichkolwiek nowych próbek.

Jeśli którakolwiek z kontroli testów nie przejdzie pomyślnie kontroli ważności, system Panther Fusion automatycznie unieważnia próbki, których to dotyczy — w takiej sytuacji konieczne będzie przetestowanie nowego zestawu kontroli testów przed rozpoczęciem przetwarzania jakichkolwiek nowych próbek.

Kontrola wewnętrzna

W trakcie automatycznego przetwarzania próbek w systemie Panther Fusion do każdej próbki dodawana jest kontrola wewnętrzna. Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli wewnętrznej są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie systemu Panther Fusion. Wykrywanie kontroli wewnętrznej nie jest wymagane dla próbek, które są dodatnie względem którejkolwiek sekwencji docelowej testu. Kontrola wewnętrzna musi być wykryta we wszystkich próbkach, które są ujemne dla sekwencji docelowych testu. Próbki, które nie spełniają tych kryteriów, są zgłaszane jako nieważne. Każda próbka z nieważnym wynikiem musi zostać ponownie przetestowana.

System Panther Fusion został zaprojektowany w taki sposób, aby zapewniał precyzyjną weryfikację procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w niniejszej ulotce załączonej do opakowania oraz w *Podręczniku operatora systemu Panther / Podręcznik operatora systemu Panther Fusion*.

Interpretacja wyników

Oprogramowanie testu Panther Fusion MRSA automatycznie generuje wyniki dla próbek i kontroli. Wyniki dla bakterii SA i MRSA są podawane oddzielnie. Wynik może być ujemny względem SA i MRSA, dodatni względem SA i ujemny względem MRSA, dodatni względem SA i MRSA lub nieważny. Próbkę z nieważnymi wynikami należy ponownie poddać badaniu.

Tabela 1 przedstawia możliwe wyniki, zgłaszane z odpowiednią interpretacją.

Tabela 1: Interpretacja testu

<i>orfX</i> /SCC <i>mec</i> (FAM)	<i>mecA</i> /C (HEX)	GAPDH (ROX)	Kontrola wewnętrzna (RED677)	Wynik	
				MRSA	SA
+	+	+	+ / -	Dodatni	Dodatni
+	-	+	+ / -	Ujemny	Dodatni
-	+	+	+ / -	Ujemny	Dodatni
-	-	+	+ / -	Ujemny	Dodatni
+	-	-	+ / -	Ujemny	Ujemny
-	+	-	+ / -	Ujemny	Ujemny
+	+	-	+ / -	Ujemny	Ujemny
-	-	-	+	Ujemny	Ujemny
-	-	-	-	Nieważny	Nieważny

Ograniczenia

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie tych instrukcji może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i przetwarzania.
- C. Należy unikać skażenia, zachowując dobre praktyki laboratoryjne i przestrzegając procedur określonych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania.
- D. Test Panther Fusion MRSA został zwalidowany wyłącznie pod kątem użycia z próbkami z wymazów z nosa pobranych przy użyciu systemu do pobierania i transportu próbek ESwab firmy Copan (Liquid Amies Elution Swab) lub równoważnego systemu do pobierania i transportu próbek ESwab firmy BD (Liquid Amies Elution Swab).
- E. Wymazy z nosa należy pobierać zgodnie z procedurami zawartymi w ulotce dołączonej do opakowania systemu do pobierania i transportu próbek ESwab.
- F. Nowe szczepy MRSA lub SA zawierające mutacje lub polimorfizmy w regionach wiązania starterów lub sond mogą nie zostać wykryte za pomocą testu Panther Fusion MRSA. Próbkę dodatnie względem GAPDH i genu *mecA/mecC*, lecz ujemne względem połączenia *orfX/SCCmec* mogą dawać wyniki fałszywie ujemne z powodu nowych lub nietypowych typów MRSA, SCCmec/MREJ. Takie próbki mogą wymagać dalszego różnicowania za pomocą alternatywnych metod detekcji.
- G. Test Panther Fusion MRSA może generować fałszywie dodatnie wyniki względem MRSA, gdy jest wykorzystywany do badania próbek z nosa o mieszanym zakażeniu, zawierających zarówno koagulazo-ujemne gronkowce oporne na metycylinę, jak i warianty SA z pustą kasetą.
- H. *S. argenteus*, koagulazo-dodatni gatunek z rodzaju *Staphylococcus*, który jest blisko spokrewniony z gatunkiem *S. aureus*, występuje rzadko, lecz może dawać fałszywie dodatnie wyniki testu Panther Fusion MRSA.

Skuteczność testu w systemie Panther Fusion

Powtarzalność testu

Powtarzalność testu Panther Fusion MRSA została oceniona w trzech ośrodkach przy użyciu 5-elementowego panelu do badania powtarzalności. Testy przeprowadziło sześciu operatorów (dwóch na ośrodek) z zastosowaniem jednej partii odczynników testowych. W każdym ośrodku testy wykonywano dwa razy dziennie (jedna seria testów na operatora) przez co najmniej pięć dni. W ramach każdej serii testów badano trzy powtórzenia każdego elementu panelu.

Tabela 2 zawiera opis elementów panelu oraz zestawienie zgodności z oczekiwanymi wynikami poszczególnych elementów panelu. Tabela 3 przedstawia średnią oraz analizę zmienności wartości Ct pomiędzy ośrodkami, operatorami, dniami i seriami testów oraz w ramach serii testów i dla wszystkich tych parametrów ogółem.

Tabela 2: Procentowa zgodność z oczekiwanym wynikiem

Element panelu		Procentowa zgodność			Całkowita zgodność
Opis	Stężenie	Ośrodek 1	Ośrodek 2	Ośrodek 3	
MRSA, wynik umiarkowanie dodatni	MRSA na poziomie 2–3X LoD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA, wynik nisko dodatni	MRSA na poziomie 1–2X LoD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
SA, wynik umiarkowanie dodatni	SA na poziomie 2–3X LoD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
SA, wynik nisko dodatni	SA na poziomie 1–2X LoD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Ujemny	SNM bez dodatków	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)

LoD = granica wykrywalności, SNM = symulowana matryca próbki z nosa.

Tabela 3: Zmienność wartości Ct

Element panelu		Materiał docelowy	Liczba DOD	Średnia Ct	Między ośrodkami		Między operatorami		Między dniami		Między seriami		W obrębie serii		Ogółem	
Opis	Stężenie				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
MRSA, wynik umiarkowanie dodatni	MRSA na poziomie 2–3X LoD	orfX/SCCmec	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
		mec A/C	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
MRSA, wynik niski dodatni	MRSA na poziomie 1–2X LoD	orfX/SCCmec	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
		mec A/C	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
SA, wynik umiarkowanie dodatni	SA na poziomie 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
SA, wynik niski dodatni	SA na poziomie 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
Ujemny	Sama SNM (bez dodatków)	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 = cykl progowy, CV = współczynnik zmienności, LoD = granica wykrywalności, DOD = dodatni, SD = odchylenie standardowe, SNM = symulowana matryca próbek z nosa.

Skuteczność kliniczna

Skuteczność kliniczną oceniono poprzez porównanie wyników testu Panther Fusion MRSA z wynikami referencyjnego testu IVD opartego na wykrywaniu kwasów nukleinowych (NAT).

Wymazy z nosa pobrano w szpitalu na terenie USA przy użyciu systemu do transportu próbek ESwab firmy Copan z podłożem płynnym Amies. Porcję próbki testowano przy użyciu referencyjnego testu IVD NAT. Pozostałość z próbki zamrożono, przetransportowano do firmy Hologic i zbadano przy użyciu testu Panther Fusion MRSA.

Łącznie przebadano 805 próbek pod kątem obecności SA i MRSA za pomocą testu Panther Fusion MRSA i testu referencyjnego.

W porównaniu z metodą referencyjną czułość i swoistość testu Panther Fusion MRSA wyniosły odpowiednio 95,6% i 96,8% w przypadku wykrywania MRSA (Tabela 4) i odpowiednio 95,9% i 95,7% w przypadku wykrywania SA (Tabela 5).

Ponadto skuteczność testu Panther Fusion MRSA została oceniona podczas co najmniej jednego recenzowanego badania opublikowanego w literaturze naukowej. Podczas badania użyto 434 wymazów Eswab pobranych w szpitalu w Lyon, we Francji. Całkowita zgodność pomiędzy metodami wykorzystującymi hodowle pierwotne a testem Panther Fusion MRSA wyniosła 88% (n=382/434) przed analizą rozbieżności. Po dalszej analizie rozbieżnych próbek, podczas której wykorzystano wzbogaconą hodowlę i zwalidowany klinicznie test oparty na wykrywaniu kwasów nukleinowych, zgodność testu Panther Fusion z wynikami konsensusu określonymi na podstawie metod z wykorzystaniem hodowli i referencyjnych metod molekularnych wyniosła 97,5% w przypadku wykrywania SA (n=423/434; κ = 0,943; 95% CI = 90,9%; 97,6%) i 97,9% w przypadku wykrywania MRSA (n=425/434; κ = 0,841; 95% CI = 73,9%; 94,4%). Badacze stwierdzili, że biorąc pod uwagę doskonałą zgodność z metodami referencyjnymi, test Panther Fusion MRSA jest wiarygodnym narzędziem do szybkiego wykrywania MRSA.¹¹

Tabela 4: Skuteczność testu Panther Fusion MRSA w porównaniu z testem referencyjnym do wykrywania bakterii MRSA

		Test referencyjny		Ogółem
		DOD	UJEM	
Test Panther Fusion MRSA	DOD	109	22 ¹	131
	UJEM	5 ¹	669	674
Ogółem		114	691	805
Czułość		95,6% (109/114) (95% CI: 90,1% do 98,1%)		
Swoistość		96,8% (669/691) (95% CI: 95,2% do 97,9%)		
PPV		83,2% (109/131) (95% CI: 75,9% do 88,6%)		
NPV		99,3% (669/674) (95% CI: 98,3% do 99,7%)		
Zgodność procentowa		96,6% (778/805) (95% CI: 95,2% do 97,7%)		

UJEM = ujemny, NPV = ujemna wartość predykcyjna, DOD = dodatni, PPV = dodatnia wartość predykcyjna.

¹ Próbkę dającą rozbieżne wyniki testu Panther Fusion MRSA oraz testu referencyjnego pod kątem MRSA poddano dalszej ocenie przy użyciu metody z wykorzystaniem hodowli wzbogaconej.

Spośród 22 próbek fałszywie dodatnich względem MRSA uzyskanych przy użyciu testu Panther Fusion MRSA, 12 zostało ocenionych jako dodatnie względem MRSA po zastosowaniu rozstrzygającej metody z wykorzystaniem hodowli wzbogaconej.

Spośród 5 próbek fałszywie ujemnych względem MRSA uzyskanych przy użyciu testu Panther Fusion MRSA, 4 zostały ocenione jako ujemne względem MRSA po zastosowaniu rozstrzygającej metody z wykorzystaniem hodowli wzbogaconej.

Tabela 5: Skuteczność testu Panther Fusion MRSA w porównaniu z testem referencyjnym do wykrywania bakterii SA

		Test referencyjny		Ogółem
		DOD	UJEM	
Test Panther Fusion MRSA	DOD	234	24 ¹	258
	UJEM	10 ¹	537	547
Ogółem		244	561	805
Czułość		95,9% (234/244) (95% CI: 92,6% do 97,8%)		
Swoistość		95,7% (537/561) (95% CI: 93,7% do 97,1%)		
PPV		90,7% (234/258) (95% CI: 86,5% do 93,7%)		
NPV		98,2% (537/547) (95% CI: 96,7% do 99,0%)		
Zgodność procentowa		95,8% (771/805) (95% CI: 94,2% do 97,0%)		

UJEM = ujemny, NPV = ujemna wartość predykcyjna, DOD = dodatni, PPV = dodatnia wartość predykcyjna.

¹ Próbkę dającą rozbieżne wyniki testu Panther Fusion MRSA oraz testu referencyjnego pod kątem SA poddano dalszej ocenie przy użyciu metody z wykorzystaniem hodowli wzbogaconej.

Spośród 24 próbek fałszywie dodatnich względem SA uzyskanych przy użyciu testu Panther Fusion MRSA, 11 zostało ocenionych jako dodatnie względem SA po zastosowaniu rozstrzygającej metody z wykorzystaniem hodowli wzbogaconej.

Spośród 10 próbek fałszywie ujemnych względem SA uzyskanych przy użyciu testu Panther Fusion MRSA, 7 zostało ocenionych jako ujemne względem SA po zastosowaniu rozstrzygającej metody z wykorzystaniem hodowli wzbogaconej.

Czułość analityczna

95-procentowe przedziały ufności dla granicy wykrywalności (LoD) szczepów MRSA i SA przy użyciu testu Panther Fusion MRSA oceniono poprzez przetestowanie symulowanej matrycy próbki z nosa (SNM), do której dodano różne stężenia dwóch szczepów MRSA i jednego szczepu SA. Przetestowano dwadzieścia jeden powtórzeń, stosując trzy partie odczynników dla każdego stężenia, co łącznie dało 63 powtórzenia. Stężenia LoD danych patogenów docelowych określono przy użyciu analizy probitowej i zweryfikowano poprzez zbadanie dodatkowych ≥ 20 powtórzeń przy użyciu jednej partii odczynników. Uzyskaną wartość CFU/ml reprezentującą wartość LoD dla każdego szczepu potwierdzono metodą oznaczania ilości bakterii na płycie (Tabela 6).

Tabela 6: Czułość analityczna

Szczep	Źródło (ID)	Typ SCCmec	Granica wykrywalności (CFU/ml)
<i>S. aureus</i> (SA), Seattle 1945	ATCC (25923)	ND.	1833
<i>S. aureus</i> oporny na metycylinę (MRSA), NYBK2464	ATCC (BAA-41)	II	2383
<i>S. aureus</i> oporny na metycylinę (MRSA), HPV107	ATCC (BAA-44)	I	1183

Reaktywność analityczna (inkluzywność)

Do oceny reaktywności analitycznej testu Panther Fusion MRSA wykorzystano zbiór wcześniej scharakteryzowanych i zróżnicowanych geograficznie szczepów MRSA i SA. Łącznie przebadano 106 szczepów MRSA i 22 szczepy SA w matrycy SNM o stężeniu zbliżonym do granicy LoD testu.

Szczepy MRSA badane za pomocą testu Panther Fusion MRSA zebrano z różnych lokalizacji geograficznych w 27 krajach. Szczepy te reprezentowały różne typy i podtypy kasety SCCmec (I, II, III, IV, IVa-e, IVg-h, V, VI, VII, VIII, IX i XI) oraz różne typy MREJ (i, ii, iii, iv, xii, xv, xviii i xxi). Wśród badanych szczepów MRSA uwzględniono również klon Bengal Bay (ST772). Minimalne stężenia hamujące oksacyliny dla badanych szczepów MRSA wahały się od niskich do wysokich (od 0,5 do ponad 256 $\mu\text{g/ml}$). Niektóre szczepy MRSA i SA zostały wcześniej scharakteryzowane za pomocą elektroforezy żelowej w polu pulsacyjnym (PFGE). Zbadano różne typy PFGE (USA100-1200, w tym USA300-0114, CC130, WA-MRSA i Iberian). Wśród badanych szczepów SA uwzględniono 9 wariantów z pustą kasetą i 8 szczepów *S. aureus* o granicznej oporności na oksacylinę (szczepy BORSA).

Wszystkie przetestowane szczepy zostały prawidłowo zidentyfikowane jako MRSA lub SA za pomocą testu Panther Fusion MRSA, co wskazuje, że test Panther Fusion MRSA umożliwia prawidłową identyfikację różnych szczepów *S. aureus* opornych na metycylinę jako MRSA-dodatnich oraz różnych szczepów *S. aureus* wrażliwych na metycylinę jako SA-dodatnich i MRSA-ujemnych.

Swoistość analityczna

Swoistość analityczna testu Panther Fusion MRSA została oceniona poprzez badanie 95 mikroorganizmów/wirusów niebędących patogenami docelowymi, występujących powszechnie w nosie (Tabela 7). Bakterie (77 szczepów) i drożdże (2 szczepy) badano w stężeniach wynoszących 10^6 CFU/ml, IFU/ml lub kopii/ml. Wirusy (16 szczepów) badano w stężeniach wynoszących 10^5 PFU/ml. Każdy mikroorganizm/wirus dodano do matrycy SNM, a następnie badano w obecności szczepów MRSA lub SA w stężeniu 3X LoD lub przy ich braku. Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej. W obecności mikroorganizmów/wirusów nie zaobserwowano żadnych interferencji.

Tabela 7: Mikroorganizmy powszechnie występujące w próbkach z nosa badane pod kątem reaktywności krzyżowej

Wirusy		
Adenowirus typu 1	Wirus odry	Grypa A H1N1
Adenowirus typu 7A	Wirus świnki	Wirus paragrypy typu 1
Cytomegalowirus	Wirus paragrypy typu 3	Wirus paragrypy typu 2
Enterowirus typu 68	Syncytialny wirus oddechowy typu B	Rinowirus typu 1A
Ludzki metapneumowirus (hMPV) 18 typu B2	Szczep koronawirusa 229E	
Grypa B	Wirus Epsteina-Barr	
Bakterie i grzyby		
<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 flavescent</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 flavescent</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)	

Zakłócenia konkurencyjne

Mieszane zakażenia szczepami MRSA z SA, MRSA ze *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) i SA z MRSE oceniano przy użyciu testu Panther Fusion MRSA poprzez badanie patogenu docelowego testu (MRSA lub SA) w stężeniu zbliżonym do granicy wykrywalności w obecności mikroorganizmów konkurencyjnych o wysokim stężeniu. Wyniki, które przedstawia Tabela 8, wskazują, że w testowanych warunkach zakażenia mieszane nie miały wpływu na czułość wykrywania szczepów MRSA i SA.

Tabela 8: Zakłócenia konkurencyjne

Konkurencyjny mikroorganizm		Materiał docelowy		Wynik testu Panther Fusion MRSA	
Opis	Stężenie	Opis	Stężenie	MRSA	SA
SA	1,8 x 10 ⁷ CFU/ml	MRSA	3X LoD	+	+
MRSE	1,8 x 10 ⁷ CFU/ml	MRSA	3X LoD	+	+
MRSE	2,7 x 10 ⁷ CFU/ml	SA	3X LoD	-	+

CFU = jednostka tworząca kolonię, LoD = granica wykrywalności.

Zakłócenia

Za pomocą testu Panther Fusion MRSA zbadano substancje potencjalnie zakłócające, które mogą występować w próbkach. Klinicznie istotne stężenia różnych substancji endogennych i egzogennych (Tabela 9) testowano w obecności szczepów MRSA i SA, w stężeniach odpowiadających ich granicom LoD, oraz przy ich braku. Substancje w badanych stężeniach nie miały wpływu na skuteczność testu Panther Fusion MRSA.

Tabela 9: Potencjalne substancje zakłócające

Typ	Substancja	Składnik aktywny	Stężenie
Endogenna	Krew	Krew ludzka 100%	5% v/v
	Mucyny	Mucyna bydlęca z gruczołu podszczękowego	0,5% w/v
Leki dostępne bez recepty	Afrin	Chlorowodorek oksymetazoliny 0,05%	15% v/v
	Mgiełka do nosa Dristan	Chlorowodorek oksymetazoliny 0,05%	15% v/v
	Otrivin	Chlorowodorek ksylometazoliny 0,1%	15% v/v
	Spray do nosa z solą fizjologiczną	Chlorek sodu 0,65% (0,65%)	15% v/v
	Neo-Synephrine	Chlorowodorek fenylefryny 1,0%	15% v/v
	Pastylki do ssania na gardło Chloroseptic	Benzokaina 0,4% (15 mg w 1 pastylce) i metanol 0,3% (10 mg w 1 pastylce)	15% w/v
	Żel do nosa Zicam	Chlorowodorek oksymetazoliny 0,05%	15% w/v
	Flonase	Propionian flutykazonu 0,05%	15% v/v
	Spray do nosa NasalCrom	Kromolin sodu	15% v/v

Tabela 9: Potencjalne substancje zakłócające (ciąg dalszy)

Typ	Substancja	Składnik aktywny	Stężenie
Leki na receptę	Taro-Mupirocin, maść z Mupirocin USP, 2%	Mupirocyna	0,5 mg/ml
	Relenza	Zanamawir, 5 mg	2,0 mg/ml
	Tobramycyna	Tobramycyna	4,5 mg/ml
	Roztwór do nosa Flunizolid USP, 0,025%	Flunizolid	0,12 mg/ml
	Beconase AQ	Beklometazon	0,4 mg/ml

v/v = objętościowo/objętościowe, w/v = masowo/objętościowe.

Przenoszenie / zanieczyszczenie krzyżowe

Przenoszenie / zanieczyszczenie krzyżowe oceniano w dziewięciu oddzielnych seriach testów wykonywanych na trzech aparatach. W każdej serii testów próbki ujemne (SNM) i silnie dodatnie (SNM z dodatkiem szczepu MRSA w stężeniu 5×10^7 CFU/ml) były układane naprzemiennie. Wskaźnik przenoszenia wyniósł 0,0%.

Precyzja testu

Precyzja testu Panther Fusion MRSA została poddana ocenie przy użyciu utworzonych sztucznie próbek o stężeniu zbliżonym do lub równym granicy LoD. Probki były testowane przez trzech operatorów, w dwóch oddzielnych seriach testów dziennie, przy użyciu trzech partii odczynników, w trzech aparatach Panther Fusion w ciągu 35 dni.

Tabela 10 przedstawia odsetek wyników dodatnich oraz (%) procentową zgodność (95% CI). Tabela 11 przedstawia średnią oraz analizę zmienności wartości Ct pomiędzy aparatami, operatorami, partiami, dniami i seriami testów oraz w ramach serii testów i dla wszystkich tych parametrów ogółem.

Tabela 10: Procentowa zgodność z oczekiwanym wynikiem

Materiał docelowy	Element panelu		Odsetek wyników dodatnich dla typu patogenu docelowego (L. wyników dodatnich / I. wyników ważnych)	Procentowa zgodność (95% CI)
	Opis	Stężenie (w SNM)		
MRSA	MRSA, wynik umiarkowanie dodatni	MRSA na poziomie 2–3X LoD	100,0% (160/160)	100,0% (97,7–100%)
	MRSA, wynik nisko dodatni	MRSA na poziomie 1–2X LoD	99,4% (159/160)	99,4% (96,5–99,9%)
SA	SA, wynik umiarkowanie dodatni	SA na poziomie 2–3X LoD	100,0% (160/160)	100,0% (97,7–100%)
	SA, wynik nisko dodatni	SA na poziomie 1–2X LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7–100%)
Ujemny	Ujemny	Sama SNM (bez dodatków)	0,0% (0/162)	100,0% (97,7–100%)

CI = przedział ufności, LoD = granica wykrywalności, SNM = symulowana matryca próbki z nosa.

Tabela 11: Zmienność wartości Ct

Element panelu	Materiał docelowy	Liczba DOD	Średnia Ct	Między aparatami		Między operatorami		Między partiami		Między dniami		Między seriami		W obrębie serii		Ogółem	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
MRSA, wynik umiarkowanie dodatni	<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
MRSA, wynik niskododatni	<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
SA, wynik umiarkowanie dodatni	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
SA, wynik niskododatni	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
Ujemny	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 = cykl progowy, CV = współczynnik zmienności, DOD = dodatni, SD = odchylenie standardowe.

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., 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. Dostępność w Internecie: <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. Strona internetowa CLSI, <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Dostęp: wrzesień 2017 r.
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>.

Dane kontaktowe i historia wersji



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



Adres australijskiego sponsora:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Adres e-mail i numer telefonu do działu pomocy technicznej i obsługi klienta właściwe dla danego kraju można znaleźć na stronie www.hologic.com/support.

Ten produkt jest przeznaczony do użytku wyłącznie w zakresie diagnostyki in vitro u ludzi.

W przypadku wystąpienia poważnego incydentu należy poinformować o tym fakcie producenta i właściwy organ w swoim regionie.

Hologic, Aptima, Cleavase, Invader, Invader Plus, Panther i Panther Fusion oraz powiązane logo są znakami towarowymi i/lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub podmiotów zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

ESwab jest znakiem towarowym firmy Copan Diagnostics, Inc.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem w Stanach Zjednoczonych spośród wymienionych na stronie www.hologic.com/patents.

©2017–2022 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

AW-22789-3401 Rev. 001
06.2022 r.

Historia zmian	Data	Opis
AW-22789-001 Rev. 001	czerwiec 2022 r.	- Instrukcję użycia testu Panther Fusion MRSA opracowano na podstawie dokumentu o numerze AW-18028-001 w Rev. 003 w celu zapewnienia zgodności z przepisami IVDR. - Zaktualizowano informacje zawarte w następujących sekcjach: Podsumowanie i objaśnienie testu, Skuteczność kliniczna, Reaktywność analityczna (inkluzywność) i Materiały wymagane i dostępne osobno oraz informacje o badaniu w sekcji Przenoszenie / zanieczyszczenie krzyżowe. - Zaktualizowano informacje kontaktowe, w tym: przedstawiciela we WE, znak CE, informacje o przedstawicielu w Australii i pomocy technicznej. - Wprowadzono różne zmiany w stylu i formatowaniu.