

MRSA Assay (Panther Fusion™ System)

Návod k použití
Pro diagnostické použití *in vitro*
Pouze k vývozu z USA

OBSAH

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci	3
Principy postupu	3
Varování a bezpečnostní opatření	4
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi	7
Odběr a skladování vzorků	8
Systém Panther Fusion	9
Reagensie a dodávané materiály	9
Požadované materiály dostupné samostatně	10
Postup testování v systému Panther Fusion	11
Poznámky k postupu	12
Kontrola kvality	13
Negativní a pozitivní kontroly	13
Vnitřní kontrola	13
Interpretace výsledků	14
Omezení	15
Charakteristiky testování v systému Panther Fusion	16
Reprodukovatelnost testu	16
Klinická funkčnost	17
Analytická citlivost	19
Analytická reaktivita (inkluzivnost)	19
Analytická specifita	19
Kompetitivní interference	21
Interference	21
Přenos / křížová kontaminace	22
Preciznost testu	22
Literatura	24
Kontaktní údaje a historie revizí	25

Obecné informace

Určené použití

Test Panther Fusion™ MRSA je automatizovaný diagnostický test *in vitro*, který využívá chemikálie Invader Plus™ ke kvalitativní detekci a diferenciaci DNA druhu *Staphylococcus aureus* (SA) a meticilin-rezistentního *Staphylococcus aureus* (MRSA) ze vzorků nosních stěrů. Tento test je indikován k použití v systému Panther Fusion a slouží jako pomůcka při prevenci a kontrole infekcí MRSA/SA ve zdravotnických zařízeních.

Shrnutí a vysvětlení testu

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) je považován za součást běžné lidské flóry a může kolonizovat anteriorní nosní dírky, hrdlo, perineum, třísla a kůži.¹ Většina přenašečů je asymptomatická a kolonizující bakterie jim nezpůsobují onemocnění. Ve zdravotnických zařízeních však mohou být infekce vyvolané bakterií *S. aureus* závažné až fatální. Příznaky invazivní infekce vyvolané bakterií *S. aureus* sahají od mírných kožních infekcí (vřídky a abscesy) až po bakteriémii, sepsi, endokarditidu, osteomyelitidu a pneumonii.¹

Rozšířené používání β -laktamového antibiotika meticilinu, derivátu penicilinu, vedlo ke vzniku kmenů bakterie *S. aureus* rezistentních vůči antibiotikům, označovaných jako meticilin rezistentní *S. aureus* (MRSA). Rezistence vůči antibiotikům u MRSA je z velké části dána expresí genu *mecA*, který je nesen mobilním genetickým prvkem známým jako stafylokoková chromozomální kazeta *mec* (SCC*mec*). Gen *mecA* kóduje protein vázající penicilin 2a (PBP2a), enzym zapojený do syntézy buněčné stěny, který je odolný vůči inhibici β -laktamovými antibiotiky.¹ V roce 2011 byl u některých kmenů *S. aureus* popsán alternativní a homologní gen pro mechanismus rezistence, *mecC*.^{2,3} Test Panther Fusion MRSA detekuje přítomnost *mecA* či *mecC*, jakož i místo inserce SCC*mec* v konzervovaném otevřeném čtecím rámci (*orfX*) v genomu *S. aureus*, známém také jako spojení *orfX*/SCC*mec*.

Genetické excize v rámci prvku SCC*mec* mohou vést k absenci funkčního genu *mecA*, což vede k takzvané „variantě prázdné kazety“, kterou nesou některé k meticilinu citlivé kmeny *S. aureus* (MSSA), které obsahují cílovou sekvenci *orfX*/SCC*mec*, ale jsou negativní pro signály *mecA*/*mecC*. Koaguláza-negativní stafylokoky (CoNS), jako je *Staphylococcus epidermidis*, které běžně kolonizují kůži, mohou být také nositeli genu *mecA*,⁴ ale nejsou nositeli cílové sekvence se spojením *orfX*/SCC*mec* specifickým pro *S. aureus*. Aby se tedy předešlo falešně pozitivním výsledkům z variant „prázdné kazety“ nebo vzorků obsahujících smíšené druhy stafylokoků,⁵ detekuje test Panther Fusion MRSA k identifikaci MRSA současně přítomnost obou cílových spojení *mecA*/*mecC* a *orfX*/SCC*mec*. Test Panther Fusion MRSA detekuje také variantu GAPDH specifickou pro *S. aureus*, a může tak odlišit bakterie SA citlivé na léčiva od kmenů rezistentních na léčiva.

MRSA je v EU považována za hlavní příčinu infekcí spojených se zdravotní péčí (HAI).⁶ V důsledku své vysoce invazivní povahy a omezené citlivosti na léčbu představuje MRSA obrovskou klinickou zátěž s vysokou morbiditou a mortalitou.⁷ Vzhledem k vysoké prevalenci mezi hospitalizovanými pacienty je přesná a rychlá identifikace MRSA nezbytná pro zahájení účinné antimikrobiální léčby a zpomalení šíření infekcí MRSA.⁸ Molekulární metody detekce MRSA byly zavedeny jako rychlejší alternativa k tradičním, časově náročným kultivačním metodám.

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (Basic UDI-DI). Chcete-li najít souhrn SSP pro test Panther Fusion MRSA, hledejte jej podle základního jedinečného identifikátoru prostředku (Basic Unique Device Identifier – BUDI): 54200455DIAGPFMRSADE.

Principy postupu

Systém Panther Fusion plně automatizuje zpracování vzorků (buněčná lýza, záchyt nukleové kyseliny, amplifikace a detekce) pro test Panther Fusion MRSA. Ke každému vzorku se automaticky přidává vnitřní kontrola (IC-X) prostřednictvím pracovní reagentie Fusion Capture Reagent-X (wFCR-X), která monitoruje interference během zpracování vzorku, amplifikace a detekce způsobené selháním reagentie nebo inhibičními látkami.

Poznámka: Systém Panther Fusion přidává kontrolu IC-X do reagentie FCR-X. Po přidání kontroly IC-X do reagentie FCR-X je vzniklý roztok označován jako wFCR-X.

Zpracování vzorků a záchyt nukleových kyselin: Vzorky se nejprve inkubují v alkalické reagentii (Panther Fusion Enhancer Reagent-X; FER-X), aby došlo k lýze buněk. Nukleová kyselina uvolněná během kroku lýzy hybridizuje s magnetickými částicemi v reagentii FCR-X. Zachycené částice se oddělí od zbytkové matrice vzorku v magnetickém poli sérií promývacích kroků s jemným detergentem. Zachycená nukleová kyselina je poté z magnetických částic eluována reagentií s nízkou iontovou silou (Panther Fusion Elution Buffer).

Amplifikace s multiplexní PCR a detekce Invader™: Lyofilizovaná reakční hlavní směs v jedné jednotkové dávce se rekonstituuje pomocí pufru Panther Fusion Reconstitution Buffer II a spojí se s eluovanou nukleovou kyselinou v reakční zkumavce. Aby se zabránilo odpařování během reakce Invader Plus, přidává se olejová reagentie Panther Fusion Oil.

Reakce Invader Plus je kombinací polymerázové řetězové reakce (PCR) a chemických reakcí Invader. Amplifikace cíle na bázi PCR probíhá pomocí cílově specifických dopředných a zpětných primerů. Detekce cíle a generování signálu se provádí pomocí chemie Invader. Během detekční fáze primární neznačená sonda a invazivní oligonukleotid hybridizují s cílovou DNA a vytvářejí ternární komplex DNA, který je rozpoznán a rozštěpen enzymem Cleavase™. Při této štěpné reakci se z primární sondy uvolní štěpný produkt specifický pro daný cíl. Produkt štěpení specifický pro cíl pak hybridizuje s odpovídající kazetou s fluorescenčním rezonančním přenosem energie (FRET), což vede k další štěpné reakci. Při každém štěpení kazety FRET dojde k oddělení příslušného fluoroforu a zhášeče, čímž se zvýší detekovatelný fluorescenční signál.⁹ Test využívá cílově specifické primární sondy a párové FRET kazety se spektrálně odlišnými fluorofory pro cíle *orfX/SCCmec*, *mecA/C*, glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenázu (GAPDH) a vnitřní kontrolu. Test se zaměřuje na izoformu GAPDH specifickou pro *S. aureus*. Software testu Panther Fusion MRSA vypočítá výsledek prahové hodnoty cyklu (Ct) z kumulovaného fluorescenčního signálu v každém fluorescenčním kanálu, aby bylo možné kvalitativně určit přítomnost každého cíle.

Cíle a odpovídající fluorescenční kanály použité v testu Panther Fusion MRSA jsou uvedeny v tabulce níže:

Cíl	Kanál
Spojení <i>orfX</i> /SCC <i>mec</i>	FAM
Gen <i>mecA/C</i>	HEX
Gen GAPDH	ROX
Vnitřní kontrola	RED677

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pro profesionální použití.
- C. Přečtěte si pozorně celou tuto příbalovou informaci a dokument *Panther/Návod k obsluze systému Panther Fusion*.

Související s laboratoří

- D. Reagencie pro zlepšení Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) je žíravá, zdraví škodlivá při požití a způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- E. Tyto postupy mohou provádět pouze pracovníci s náležitým školením v použití tohoto testu a zacházení s potenciálně infekčními materiály. Dojde-li k rozliti, ihned proveďte dezinfekci za použití vhodných postupů daného pracoviště.
- F. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální preventivní bezpečnostní opatření. Správné způsoby manipulace a likvidace musí stanovit vedoucí laboratoře. Tento diagnostický postup smí provádět pouze personál adekvátně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.¹⁰
- G. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- H. Při manipulaci se vzorky a reagensy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a reagensy si pečlivě umyjte ruce.
- I. Všechny materiály, který přišel do kontaktu se vzorky a reagensy, zlikvidujte v souladu s příslušnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy.

Související se vzorky

- J. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, dodržujte při přepravě vzorků řádné skladovací podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- K. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké množství bakterií nebo jiných organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby se vzorky vzájemně nedotýkaly, a při likvidaci použitých materiálů je nepřenášejte nad otevřenými nádobkami. Pokud se dotknete vzorku, vyměňte si rukavice.
- L. Nepoužívejte odběrovou soupravu ESwab, pokud je poškozená, a nepoužívejte ji po uplynutí doby expirace.

Související s testem

- M. Nepoužívejte reagentie ani kontroly po datu expirace.
- N. Skladujte složky testu za doporučených podmínek skladování. Další informace naleznete v části *Požadavky na skladování reagentií a zacházení s nimi a Postup testování v systému Panther Fusion*.
- O. Neslévejte žádné reagentie či kapaliny z testu. Reagentie ani kapaliny nedolévejte; systém Panther Fusion ověřuje hladiny reagentií.
- P. Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci reagentií.
- Q. Požadavky na kontrolu kvality musí být plněny v souladu s lokálními, národními a/nebo federálními předpisy nebo akreditačními požadavky a se standardními postupy pro kontrolu kvality vaší laboratoře.
- R. Testovací kazetu nepoužívejte v případě, že skladovací sáček přestal těsnit, ani v případě, že je fólie testovací kazety porušená. Pokud se některý z těchto případů vyskytne, kontaktujte technickou podporu společnosti Hologic.
- S. Obaly kapalin nepoužívejte, jsou-li poškozené nebo netěsné. V takovém případě kontaktujte technickou podporu společnosti Hologic.
- T. S testovacími kazetami zacházejte opatrně. Testovací kazety neupustěte ani nepřevracejte. Vyhněte se jejich dlouhodobé expozici okolnímu světlu.
- U. Některé reagentie používané s testem Panther Fusion MRSA jsou označeny symboly upozorňujícími na rizika a bezpečnostními symboly.

Poznámka: Informace o nebezpečnosti jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (BL) EU a Severní Ameriky. Informace o nebezpečích specifické pro váš region najdete v bezpečnostním listu specifickém pro daný region v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologicsds.com. Další informace o symbolech naleznete v legendě symbolů na internetové adrese www.hologic.com/package-inserts.

Informace o nebezpečí pro EU	
	Olej Panther Fusion Oil POLYDIMETHYLSILOXAN 100 % VAROVÁNÍ H315 – Dráždí kůži H319 – Způsobuje vážné podráždění očí

	Reagencie pro zlepšování Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) HYDROXID LITHNÝ, MONOHYDRÁT, 5–10 %
	NEBEZPEČÍ H302 – Zdraví škodlivý při požití. H314 – Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. P260 – Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P303 + P361 + P353 – PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte. P305 + P351 + P338 – PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. P310 – Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít.
Informace o nebezpečí pro USA	
	Olej Panther Fusion Oil POLYDIMETHYLSILOXAN, 95–100 %
	VAROVÁNÍ H315 – Dráždí kůži H319 – Způsobuje vážné podráždění očí P264 – Po manipulaci důkladně omyjte obličej, ruce a každou exponovanou část pokožky. P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P305 + P351 + P338 – PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. P337 + P313 – Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P302 + P352 – PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím mýdla a vody. P332 + P313 – Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362 – Kontaminovaný oděv svlékněte a před opakovaným použitím jej vyperte.
	Reagencie pro zlepšování Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) HYDROXID LITHNÝ, MONOHYDRÁT, 5–10 %
	NEBEZPEČÍ H302 – Zdraví škodlivý při požití. H314 – Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. P264 – Po manipulaci důkladně omyjte obličej, ruce a každou exponovanou část pokožky. P270 – Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte. P260 – Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P305 + P351 + P338 – PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. P310 – Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P303 + P361 + P353 – PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte. P363 – Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte P304 + P340 – PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání P310 – Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P301 + P312 – PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. P330 – Vypláchněte ústa. P301 + P330 + P331 – PŘI POŽITÍ: vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení P405 – Skladujte uzamčené. Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi

A. V následující tabulce jsou uvedeny požadavky na skladování a manipulaci s tímto testem.

Reagencie	Skladování v neotevřeném stavu	Stabilita v systému / stabilita po otevření ¹	Skladování v otevřeném stavu
Testovací kazeta Panther Fusion MRSA Assay Cartridge	2 °C až 8 °C	60 dní	2 °C až 8 °C ²
Reagencie pro záchyt Panther Fusion Capture Reagent-X (FCR-X)	15 °C až 30 °C	30 dní	15 °C až 30 °C
Reagencie pro zlepšování Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X)	15 °C až 30 °C	30 dní	15 °C až 30 °C
Vnitřní kontrola Panther Fusion Internal Control-X (IC-X)	2 °C až 8 °C	(v rámci wFCR-X)	Neaplikuje se
Eluční pufr Panther Fusion Elution Buffer	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Olej Panther Fusion Oil	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Rekonstituční pufr Panther Fusion Reconstitution Buffer II	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Pozitivní kontrola Panther Fusion MRSA Positive Control	2 °C až 8 °C	Jednorázová lahvička	Nerelevantní – na jedno použití
Negativní kontrola Panther Fusion Negative Control II	2 °C až 8 °C	Jednorázová lahvička	Nerelevantní – na jedno použití

Po vyjmutí reagensů ze systému Panther Fusion je nutné je ihned vrátit zpět do prostředí s vhodnou skladovací teplotou.

¹ Stabilita v systému začíná v době, kdy je reagencie pro testovací kazetu Panther Fusion MRSA, FCR-X, FER-X a IC-X umístěna do systému Panther Fusion. Stabilita v systému pro rekonstituční pufr Panther Fusion Reconstitution Buffer II, eluční pufr Panther Fusion Elution Buffer a olejovou reagencii Panther Fusion Oil Reagent začíná, když je balení reagensů použito poprvé.

² Je-li testovací kazeta odstraněna ze systému Panther Fusion, uložte ji do vzduchotěsné nádoby s vysoušedlem při doporučené teplotě skladování.

B. Reagencie wFCR-X a FER-X jsou stabilní po dobu 60 dní, jsou-li skladovány uzavřené a při teplotě 15 °C až 30 °C. Neukládejte do chladničky.

C. Zlikvidujte všechny nepoužité reagensy s prošlou stabilitou v systému.

D. Kontroly jsou stabilní do data vyznačeného na lahvičkách.

E. Při manipulaci s reagensy a jejich skladování zabraňte křížové kontaminaci.

F. **Reagencie nezmrazujte.**

Odběr a skladování vzorků

Klinické vzorky – klinický materiál odebraný pacientovi umístěný ve vhodném transportním systému. V případě testu Panther Fusion MRSA se jedná o sběrný a transportní systém ESwab.

Vzorky – představují obecnější termín, který popisuje jakýkoli materiál pro testování pomocí systému Panther Fusion, včetně klinických vzorků a kontrol.

Poznámka: Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Přijměte univerzální bezpečnostní opatření.

Poznámka: Během manipulace s klinickými vzorky dbejte na to, aby se zabránilo křížové kontaminaci. Při likvidaci například nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.

A. Sběr vzorků

Odeberte jeden vzorek stěru ESwab z obou nosních dírek podle standardního postupu vašeho zařízení nebo využijte následující pokyny:

1. Umyjte si ruce a nasadte si čisté rukavice.
2. Otevřete obal tamponu a vyjměte tampon z obalu.
3. Opatrně vložte flokovanou část tamponu do nosní dírky pacienta.
4. Jemně zatlačte a 3- až 5krát přejeďte tamponem po vnitřní straně nosní dírky.
5. Opakujte postup v druhé nosní díрке pomocí stejného tamponu.

Poznámka: Abyste zabránili kontaminaci, dávejte pozor, abyste se nedotýkali tamponu pod bodem zlomu.

6. Otevřete zkumavku obsahující 1 ml tekutého přípravku Amies, vložte do ní tampon se vzorkem a zlomte tampon v místě zlomu.
7. Znovu uzavřete zkumavku a zlikvidujte zbývající část tamponu.
8. V případě potřeby zkumavku označte.
9. Sundejte si rukavice a umyjte si ruce.

Poznámka: Pokud se tekutý přípravek Amies rozlije před vložením tamponu do zkumavky, vložte tampon s odebraným vzorkem do nové zkumavky obsahující 1 ml tekutého přípravku Amies. Pokud se obsah zkumavky po vložení tamponu vylíje, odeberte nový vzorek stěru z nosu.

B. Přeprava a skladování vzorků před testováním

Po odběru vzorek přepravte a uchovávejte ve zkumavce až 48 hodin při teplotě 15 °C až 30 °C nebo až 5 dní při teplotě 2 °C až 8 °C.

C. Uchovávání vzorků po testování

1. Umístěte zkumavky se vzorky do stojanu na zkumavky ve svislé poloze.
2. Na otestované vzorky nasadte nový uzávěr.
3. Pokud je třeba otestované vzorky přepravit, odstraňte propichovací uzávěr a nahradte jej nepropichovacím uzávěrem. Zachovejte podmínky skladování vzorků během přepravy, jak je popsáno v části *Přeprava a skladování vzorků před testováním*.

Poznámka: Vzorky musejí být přepravovány v souladu s platnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy pro přepravu.

Systém Panther Fusion

Reagencie a dodávané materiály

Balení testu

Složky ¹	Kat. č.	Skladování
Testovací kazety Panther Fusion MRSA Assay Cartridge, 96 testů Testovací kazeta Panther Fusion MRSA Assay Cartridge, 12 testů, 8 ks v krabici	PRD-04803	2 °C až 8 °C
Kontroly testu Panther Fusion MRSA Assay Control Zkumavka s pozitivní kontrolou Panther Fusion MRSA Positive Control, 5 ks v krabici Zkumavka s negativní kontrolou Panther Fusion Negative Control II, 5 ks v krabici	PRD-04805	2 °C až 8 °C
Vnitřní kontrola Panther Fusion Internal Control-X, 960 testů Zkumavka s vnitřní kontrolou Panther Fusion Internal Control-X, 4 ks v krabici	PRD-04476	2 °C až 8 °C
Extrakční reagencie Panther Fusion Extraction Reagent-X, 960 testů Láhev s reagensy pro zachytání Panther Fusion Capture Reagent-X, 240 testů, 4 ks v krabici Láhev s reagensy pro zlepšení Panther Fusion Enhancer Reagent-X, 240 testů, 4 ks v krabici	PRD-04477	15 °C až 30 °C
Eluční pufr Panther Fusion Elution Buffer, 2 400 testů Balení elučního pufru Panther Fusion Elution Buffer, 1 200 testů, 2 ks v krabici	PRD-04334	15 °C až 30 °C
Rekonstituční pufr Panther Fusion Reconstitution Buffer II, 1 920 testů Rekonstituční pufr Panther Fusion Reconstitution Buffer II, 960 testů, 2 ks v krabici	PRD-04804	15 °C až 30 °C
Olejová reagencie Panther Fusion Oil Reagent, 1 920 testů Olejová reagencie Panther Fusion Oil Reagent, 960 testů, 2 ks v krabici	PRD-04335	15 °C až 30 °C

¹ Složky lze také objednat v těchto balíčcích:

Univerzální souprava kapalin Panther Fusion Universal Fluids Kit, PRD-04430, obsahuje 1 olejovou reagensii Panther Fusion Oil a eluční pufr Panther Fusion Elution buffer.

Požadované materiály dostupné samostatně

Poznámka: Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedena katalogová čísla dle seznamu, pokud není uvedeno jinak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther	303095
Rozšíření modulu Panther Fusion	PRD-04173
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Souprava kapalin pro test Aptima Assay Fluids Kit (promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapalinu a olejová reagentie Aptima)	303014 (1 000 testů)
Jednotky s více zkumavkami (MTU)	104772-02
Sada pytlů na odpad Panther	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
Nebo souprava pro testy v reálném čase Panther System Run Kit for Real Time Assays Obsahuje MTU, pytle na odpad, kryty odpadních košů a testovací kapaliny	PRD-03455 (5 000 testů)
Nebo testovací souprava Panther System Run Kit (při provádění testů TMA paralelně s testy Panther Fusion) obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních košů, automatickou detekci* a testovací kapaliny	303096 (5 000 testů)
Stojany na zkumavky pro lýzu vzorků Panther Fusion, 1 008 testů, 18 stojanů v balení	PRD-04000
Špičky, 1 000 µl s filtrem, vodivé, detekující kapaliny a jednorázové. Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u svého zástupce	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Odběrový a transportní systém Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab™) nebo ekvivalentní odběrový a transportní systém BD™ Liquid Amies Elution Swab (ESwab).	480C nebo 480CE (Copan) 220245 (Becton Dickinson)
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry (volitelné)	103036A
Náhradní uzávěry láhve s extrakční reagentií	CL0040
Vortex	–
Bělidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice bez pudru	–

*Potřebné pouze pro testy Panther Aptima TMA.

Postup testování v systému Panther Fusion

Poznámka: Další procedurální informace naleznete v dokumentu *Panther/Návod k obsluze systému Panther Fusion*.

A. Příprava pracovního prostoru

1. Otřete pracovní povrchy 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte působit na kontaktní povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte pracovní desku laboratorního stolu čistým absorpčním ubrusem s plastovou vrstvou.

B. Příprava reagensí

1. Vytáhněte lahvičky s reagensiemi IC-X, FCR-X a FER-X z místa uložení.
2. Otevřete lahvičky s reagensiemi IC-X, FCR-X a FER-X a odstraňte uzávěry. Otevřete dvířka TCR v horním oddílu systému Panther Fusion.
3. Umístěte lahvičky s reagensiemi IC-X, FCR-S a FER-X do příslušných poloh v karuselu TCR.
4. Zavřete dvířka TCR.

Poznámka: Systém Panther Fusion přidává do lahvičky s reagensí FCR-X kontrolu IC-X. Po přidání reagensie IC-X do FCR-X se výsledný roztok označuje jako wFCR-X. Pokud jsou wFCR-X a FER-X vyjmuty ze systému, použijte nové uzávěry a ihned je uskladněte podle správných skladovacích podmínek.

C. Manipulace se vzorkem

1. Každý vzorek 5 sekund vortexujte. Zkumavku nepřevracujte.
2. Odstraňte uzávěr zkumavky a vytáhněte tampon ze zkumavky.
3. Zlikvidujte uzávěr zkumavky a tampon v souladu s laboratorními postupy.
4. Na zkumavku nasadte propichovací uzávěr.
5. Před vložením do stojanu zkumavky se vzorky zkontrolujte. Jestliže zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny nebo má nižší objem, než je obvyklé, jemně poklepejte na dno zkumavky, aby se bubliny uvolnily a obsah klesl na dno.

Poznámka: Abyste při zpracování nedošlo k chybě, ujistěte se, že je objem vzorku větší než 500 µl. U vzorku odebraného pomocí soupravy ESwab je k dispozici dostatečný objem pro provedení 2 reakcí Panther Fusion.

D. Příprava systému

Pokyny k nastavení systému Panther Fusion, včetně vložení vzorků, reagensí, testovacích kazet a univerzálních kapalin, jsou uvedeny v dokumentu *Panther/Návod k obsluze systému Panther Fusion*.

Poznámky k postupu

A. Ovládací prvky

1. Zkumavky s pozitivní kontrolou testu Panther Fusion MRSA Positive Control a s negativní kontrolou Panther Fusion Negative Control II můžete vložit do libovolné pozice stojanu nebo do libovolného pruhu odběrového prostoru systému Panther Fusion.
2. Jakmile jsou zkumavky s kontrolami napipetovány a jsou zpracovány pro test Panther Fusion MRSA, jsou platné po dobu až 30 dní (frekvence kontrol je konfigurována správcem systému), pokud nejsou výsledky kontroly neplatné nebo pokud není vložena nová testovací kazeta.
3. Pozitivní kontrola Panther Fusion MRSA Positive Control a negativní kontrola Panther Fusion Negative Control II se mohou jevit jako zakalené nebo mohou obsahovat sraženinu, která nebude ovlivňovat výsledky testu. Při vytemperování kontrol na pokojovou teplotu před zpracováním se sraženina rozpustí. **Kontroly nepromíchávejte ve vortexu.**
4. Každá zkumavka s kontrolou může být testována pouze jednou.
5. Pipetování vzorku od pacienta začne, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. V systému jsou registrovány platné výsledky těchto kontrol.
 - b. Sada kontrol se aktuálně zpracovává v systému.

Kontrola kvality

Software testu Panther Fusion MRSA může zrušit platnost běhu nebo výsledku vzorku, pokud se při provádění testu vyskytly problémy. Vzorky s neplatnými výsledky je nutné testovat znovu.

Negativní a pozitivní kontroly

Aby byly generovány platné výsledky, musí být testována sada kontrol analýzy. Jeden replikát pozitivní kontroly Panther Fusion MRSA Positive Control a jeden replikát negativní kontroly Panther Fusion Negative Control II musí být testovány pokaždé, když je do systému Panther Fusion vložena nová šarže testovacích kazet nebo pokud uplynula doba expirace aktuální sady platných kontrol pro šarži aktivní testovací kazety.

Systém Panther Fusion je konfigurován tak, že vyžaduje testy kontrol v intervalu specifikovaném správcem systému až do 30 dní. Software v systému Panther Fusion upozorní obsluhu, když jsou potřebné kontroly testu, a nespustí nové testy, dokud nejsou do systému vloženy kontroly a nezačne jejich zpracování.

Během zpracování systém Panther Fusion automaticky ověří kritéria pro akceptování kontrol testu. Aby byly generovány platné výsledky, kontroly testu musí projít řadou kontrol platnosti, které provádí systém Panther Fusion.

Pokud kontroly testu projdou všemi kontrolami platnosti, jsou považovány za platné pro časový interval specifikovaný správcem systému. Když tento časový interval uplyne, platnost kontrol testu v systému Panther Fusion vyprší a před zahájením testování jakýchkoli nových klinických vzorků je vyžadována nová sada kontrol testu.

Pokud některá z kontrol testu neprojde kontrolou platnosti, systém Panther Fusion automaticky zruší platnost dotčených klinických vzorků a vyžaduje, aby před zahájením testování nových klinických vzorků byla otestována nová sada kontrol.

Vnitřní kontrola

Vnitřní kontrola se přidává ke každému vzorku během automatizovaného zpracování vzorků v systému Panther Fusion. Během zpracování jsou softwarem systému Panther Fusion automaticky ověřována kritéria pro přijetí vnitřní kontroly. Detekce vnitřní kontroly není vyžadována pro vzorky, které jsou pozitivní na jakýkoli cíl testu. Vnitřní kontrola musí být detekována ve všech vzorcích, které jsou negativní na jakýkoli cíl testu. Vzorky, které nesplňují tato kritéria, jsou hlášeny jako neplatné. Každý klinický vzorek s neplatným výsledkem je nutné znovu otestovat.

Systém Panther Fusion je navržen tak, aby přesně ověřoval procesy při provádění postupů podle pokynů uvedených v této příbalové informaci a v dokumentu *Panther/Návod k obsluze systému Panther Fusion*.

Interpretace výsledků

Software testu Panther Fusion MRSA automaticky stanoví výsledky pro vzorky a kontroly. Výsledky pro SA a MRSA jsou uvedeny samostatně. Výsledek může být negativní na SA a negativní na MRSA, pozitivní na SA a negativní na MRSA, pozitivní na SA a pozitivní na MRSA nebo neplatný. Vzorky s neplatnými výsledky je nutné testovat znovu.

V tabulce 1 jsou uvedeny možné výsledky a odpovídající interpretace výsledků.

Tabulka 1: Interpretace testu

orfX/SCCmec (FAM)	mecA/C (HEX)	GAPDH (ROX)	Vnitřní kontrola (RED677)	Výsledek	
				MRSA	SA
+	+	+	+/-	Pozitivní	Pozitivní
+	-	+	+/-	Negativní	Pozitivní
-	+	+	+/-	Negativní	Pozitivní
-	-	+	+/-	Negativní	Pozitivní
+	-	-	+/-	Negativní	Negativní
-	+	-	+/-	Negativní	Negativní
+	+	-	+/-	Negativní	Negativní
-	-	-	+	Negativní	Negativní
-	-	-	-	Neplatné	Neplatné

Omezení

- A. Tento test mohou používat pouze osoby vyškolené v požadovaných postupech. Nedodržení těchto pokynů může vést k chybným výsledkům.
- B. Spolehlivost výsledků závisí na adekvátním odběru, transportu, skladování a zpracování vzorků.
- C. Zabraňte kontaminaci dodržováním správné laboratorní praxe a postupů uvedených v této příbalové informaci.
- D. Test Panther Fusion MRSA byl validován pouze pro použití se vzorky nosních stěrů odebraných pomocí odběrového a transportního systému Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) nebo ekvivalentního odběrového a transportního systému BD Liquid Amies Elution Swab (ESwab).
- E. Odeberte vzorky nosních stěrů podle postupů uvedených v příbalovém letáku pro odběrový a transportní systém ESwab.
- F. Nové kmeny MRSA nebo SA s mutacemi nebo polymorfismy ve vazebných oblastech primerů nebo sond nemusejí být pomocí testu Panther Fusion MRSA detekovány. Vzorky pozitivní na cíle GAPDH a *mecA/mecC*, ale negativní na cílové spojení *orfX/SCCmec* mohou představovat falešně negativní výsledky způsobené novými nebo neobvyklými typy SCCmec/MREJ MRSA. Takové vzorky mohou vyžadovat další rozlišení pomocí alternativních detekčních metod.
- G. Test Panther Fusion MRSA může generovat falešně pozitivní výsledek MRSA při testování vzorku odebraného z nosu se smíšenou infekcí, který obsahuje jak koaguláza negativní stafylokoky rezistentní vůči meticilinu, tak prázdnou kazetu SA.
- H. *S. argenteus*, koaguláza pozitivní druh rodu *Staphylococcus*, který je blízce příbuzný *S. aureus*, je vzácný, ale může vést k falešně pozitivnímu výsledku testu Panther Fusion MRSA.

Charakteristiky testování v systému Panther Fusion

Reprodukovatelnost testu

Reprodukovatelnost testu Panther Fusion MRSA byla hodnocena na třech pracovištích pomocí 5prvkového panelu reprodukovatelnosti. Testování bylo provedeno za použití jedné šarže testovacích reagensů a šesti operátorů (dva na každém pracovišti). Na každém pracovišti se testování provádělo dvakrát denně (jeden běh na jednoho operátora) po dobu nejméně pěti dnů. Každá série měření zahrnovala tři replikáty každého vzorku z panelu.

Prvky panelu popisuje Tabulka 2 spolu se shrnutím shody s očekávanými výsledky pro jednotlivé členy panelu. Tabulka 3 uvádí analýzu středních hodnot a variability mezi pracovišti, mezi operátory, mezi dny, mezi jednotlivými běhy a v rámci běhů a celkově (suma) pro hodnoty Ct.

Tabulka 2: Procentuální shoda s očekávanými výsledky

Prvek panelu		% shoda			Celková shoda
Popis	Koncentrace	Pracoviště 1	Pracoviště 2	Pracoviště 3	
Středně pozitivní MRSA	MRSA při 2–3× LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Slabě pozitivní MRSA	MRSA při 1–2× LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Středně pozitivní SA	SA při 2–3× LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Slabě pozitivní SA	SA při 1–2× LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Negativní	SNM bez obohacení	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)

LoD = mez detekce, SNM = simulovaná nazální matrice.

Tabulka 3: Variabilita hodnoty Ct

Prvek panelu		Cíl	Poč. POZ.	Průměrné Ct	Mezi pracovišti		Mezi uživateli		Mezi dny		Mezi cykly		V rámci cyklu		Celkem	
Popis	Koncentrace				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Středně pozitivní MRSA	MRSA při 2–3× 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
Slabě pozitivní MRSA	MRSA při 1–2× 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
Středně pozitivní SA	SA při 2–3× 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
Slabě pozitivní SA	SA při 1–2× 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
Negativní	Pouze SNM (bez obohacení)	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 = prahová hodnota cyklu, CV = variační koeficient, LoD = mez detekce, POS= pozitivní, SD = směrodatná odchylka, SNM = simulovaná nazální matrice.

Klinická funkčnost

Klinická funkčnost byla hodnocena porovnáním výsledků testu Panther Fusion MRSA s výsledky referenčního IVD testu nukleových kyselin (NAT).

Vzorky nosních stěrů byly odebrány v americké nemocnici za použití transportního systému Copan ESwab Liquid Amies. Alikvotní část vzorku byla testována pomocí referenčního IVD testu NAT. Zbytek vzorku byl poté zmrazen, odeslán společnosti Hologic a testován pomocí testu Panther Fusion MRSA.

Na přítomnost SA a MRSA bylo testováno celkem 805 vzorků pomocí testu Panther Fusion MRSA a pomocí referenčního testu.

V porovnání s referenční metodou byla citlivost testu Panther Fusion MRSA 95,6 % a specifita 96,8 % pro detekci MRSA (Tabulka 4) a 95,9 %, respektive 95,7 % pro detekci SA (Tabulka 5).

Kromě toho nejméně jedna recenzovaná studie z vědecké literatury hodnotila klinickou funkčnost testu Panther Fusion MRSA s použitím 434 vzorků Eswab odebraných z nosu v nemocnici ve francouzském Lyonu. Celková shoda mezi primárními kultivačními metodami a testováním pomocí testu Panther Fusion MRSA byla před diskrepanční analýzou 88 % (n = 382/434). Po další analýze neshodných vzorků s obohacenou kulturou a klinicky validovaným testem nukleových kyselin byla shoda testu Panther Fusion s konsenzuálním výsledkem stanoveným pomocí kultivačních a molekulárních referenčních metod 97,5 % pro detekci SA (n = 423/434; κ = 0,943; 95 % CI = 90,9 %; 97,6 %) a 97,9 % pro detekci MRSA (n = 425/434; κ = 0,841; 95 % CI = 73,9 %; 94,4 %). Řešitelé studie dospěli k závěru, že vzhledem k vynikající shodě s referenčními metodami je test Panther Fusion MRSA spolehlivým nástrojem pro rychlý screening MRSA.¹¹

Tabulka 4: Funkčnost testu Panther Fusion MRSA ve srovnání s referenčním testem pro detekci MRSA

MRSA		Referenční test		Celkem
		POZ	NEG	
Test Panther Fusion MRSA Assay	POZ	109	22 ¹	131
	NEG	5 ¹	669	674
Celkem		114	691	805
Citlivost		95,6 % (109/114) (95 % CI: 90,1 % až 98,1 %)		
Specifická		96,8 % (669/691) (95 % CI: 95,2 % až 97,9 %)		
PPV		83,2 % (109/131) (95 % CI: 75,9 % až 88,6 %)		
NPV		99,3 % (669/674) (95 % CI: 98,3 % až 99,7 %)		
Procentuální shoda		96,6 % (778/805) (95 % CI: 95,2 % až 97,7 %)		

NEG = negativní, NPV = negativní prediktivní hodnota, POZ = pozitivní, PPV = pozitivní prediktivní hodnota.

¹ Vzorky, u kterých byly zjištěny neshodné výsledky testu MRSA mezi testem Panther Fusion MRSA a referenčním testem, byly dále hodnoceny pomocí metody obohacení kultury.

Z 22 falešně pozitivních vzorků MRSA dle testu Panther Fusion MRSA bylo 12 vzorků shledáno pozitivních na MRSA i po řešení neshod s využitím obohacené kultury.

Z 5 falešně negativních vzorků MRSA dle testu Panther Fusion MRSA byly 4 vzorky shledány negativní na MRSA i po řešení neshod s využitím obohacené kultury.

Tabulka 5: Funkčnost testu Panther Fusion MRSA ve srovnání s referenčním testem pro detekci SA

SA		Referenční test		Celkem
		POZ	NEG	
Test Panther Fusion MRSA Assay	POZ	234	24 ¹	258
	NEG	10 ¹	537	547
Celkem		244	561	805
Citlivost		95,9 % (234/244) (95 % CI: 92,6 % až 97,8 %)		
Specifická		95,7 % (537/561) (95 % CI: 93,7 % až 97,1 %)		
PPV		90,7 % (234/258) (95 % CI: 86,5 % až 93,7 %)		
NPV		98,2 % (537/547) (95 % CI: 96,7 % až 99,0 %)		
Procentuální shoda		95,8 % (771/805) (95 % CI: 94,2 % až 97,0 %)		

NEG = negativní, NPV = negativní prediktivní hodnota, POZ = pozitivní, PPV = pozitivní prediktivní hodnota.

¹ Vzorky, u kterých byly zjištěny neshodné výsledky testu SA mezi testem Panther Fusion MRSA a referenčním testem, byly dále hodnoceny pomocí metody obohacení kultury.

Z 24 falešně pozitivních vzorků SA dle testu Panther Fusion MRSA bylo 11 vzorků shledáno pozitivních na SA i po řešení neshod s využitím obohacené kultury.

Z 10 falešně negativních vzorků SA dle testu Panther Fusion MRSA bylo 7 vzorků shledáno negativní na SA i po řešení neshod s využitím obohacené kultury.

Analytická citlivost

95 % intervaly spolehlivosti pro mez detekce (LoD) MRSA a SA při použití testu Panther Fusion MRSA byly určeny testováním simulované nazální matrice (SNM), která byla v několika koncentracích obohacena o dva kmeny MRSA a jeden kmen SA. Otestováno bylo dvacet jedna replikátů se třemi šaržemi reagensů pro každou koncentraci, celkem 63 replikátů. Cílové specifické koncentrace LoD byly stanoveny probitovou analýzou a ověřeny testováním dalších ≥ 20 replikátů s jednou šarží reagensů. Získaná hodnota KTJ/ml představující hodnotu LoD pro jednotlivé kmeny byla potvrzena počítáním na destičkách (Tabulka 6).

Tabulka 6: Analytická citlivost

Kmen	Zdroj (ID)	Typ SCCmec	Mez detekce (KTJ/ml)
<i>S. aureus</i> (SA), Seattle 1945	ATCC (25923)	N/A	1,833
<i>S. aureus</i> rezistentní vůči metilicinu (MRSA), NYBK2464	ATCC (BAA-41)	II	2,383
<i>S. aureus</i> rezistentní vůči metilicinu (MRSA), HPV107	ATCC (BAA-44)	I	1,183

Analytická reaktivita (inkluzivnost)

K vyhodnocení analytické reaktivity testu Panther Fusion MRSA byla použita kolekce dříve charakterizovaných a geograficky různorodých kmenů MRSA a SA. Celkem bylo testováno 106 kmenů MRSA a 22 kmenů SA v matrici SNM v koncentraci blízké LoD testu.

Kmeny MRSA testované pomocí testu Panther Fusion MRSA byly odebrány z různých zeměpisných lokalit ve 27 různých zemích a představovaly několik typů a subtypů SCCmec (I, II, III, IV, IVa-e, IVg-h, V, VI, VII, VIII, IX a XI) a několik typů MREJ (i, ii, iii, iv, xii, xv, xviii a xxi). Mezi testovanými kmeny MRSA byl také klon Bengal Bay (ST772). Minimální inhibiční koncentrace oxacilinu u testovaných kmenů MRSA se pohybovaly od nízkých po vysoké (od 0,5 do více než 256 $\mu\text{g/ml}$). Některé kmeny MRSA a SA byly také dříve charakterizovány pomocí gelové elektroforézy s pulzním polem (PFGE) a byly testovány různé typy PFGE (USA100-1200 včetně USA300-0114, CC130, WA-MRSA a Iberian). Testované kmeny SA zahrnovaly 9 kmenů varianty s prázdnou kazetou a 8 hraničních kmenů *S. aureus* rezistentních vůči oxacilinu (BORSA).

Všechny testované kmeny byly testem Panther Fusion MRSA správně identifikovány jako MRSA nebo SA, což ukazuje, že test Panther Fusion MRSA správně identifikoval různé kmeny metilicilin rezistentního *S. aureus* jako pozitivní na MRSA a metilicilin citlivého *S. aureus* jako pozitivní na SA a negativní na MRSA.

Analytická specifita

Analytická specifita testu Panther Fusion MRSA byla hodnocena testováním 95 necílových organismů, které se běžně vyskytují v nose (Tabulka 7). Bakterie (77 kmenů) a kvasinky (2 kmeny) byly testovány v koncentracích 10^6 KTJ/ml nebo IFU/ml nebo kopií/ml. Viry (16 kmenů) byly testovány v koncentracích 10^5 PTJ/ml. Každý organismus byl přidán do SNM a testován v přítomnosti i nepřítomnosti MRSA nebo SA při koncentraci $3 \times \text{LoD}$. Nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita. V přítomnosti organismu nebyla pozorována žádná interference.

Tabulka 7: Mikroorganismy běžně se nacházejících ve vzorcích odebraných z nosu a testované na zkříženou reaktivitu

Viry		
Adenovirus typu 1	Virus spalniček	Chřipka A (H1N1)
Adenovirus typu 7A	Virus příušnic	Virus parainfluenzy typu 1
Cytomegalovirus	Virus parainfluenzy typu 3	Virus parainfluenzy typu 2
Enterovirus typu 68	Respirační syncytiální virus typu B	Rhinovirus typu 1A
Lidský metapneumovirus (hMPV) 18 typu B2	Koronavirus kmene 229E	
Chřipkový virus typu B	Virus Epstein-Barrové	
Bakterie a plísňe		
<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> (Leifsonia aquatica)	<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)	

Kompetitivní interference

Smíšené infekce MRSA s SA, MRSA se *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) a SA s MRSE byly hodnoceny pomocí testu Panther Fusion MRSA testováním cíle testu (MRSA nebo SA) v blízkosti meze detekce v přítomnosti konkurenčního mikrobiálního organismu ve vysoké koncentraci. Výsledky uvedené v tabulce Tabulka 8 ukazují, že citlivost detekce MRSA a SA nebyla za testovaných podmínek smíšenými infekcemi ovlivněna.

Tabulka 8: Kompetitivní interference

Konkurenční mikroorganismus		Cíl		Výsledek testu Panther Fusion MRSA	
Popis	Koncentrace	Popis	Koncentrace	MRSA	SA
SA	$1,8 \times 10^7$ KTJ/ml	MRSA	3x LoD	+	+
MRSE	$1,8 \times 10^7$ KTJ/ml	MRSA	3x LoD	+	+
MRSE	$2,7 \times 10^7$ KTJ/ml	SA	3x LoD	-	+

KTJ = kolonii tvořící jednotka, LoD = mez detekce.

Interference

Potenciálně interferující látky, které mohou být přítomny ve vzorcích, byly vyhodnoceny pomocí testu Panther Fusion MRSA. Klinicky relevantní koncentrace více endogenních a exogenních látek (Tabulka 9) byly testovány v nepřítomnosti i přítomnosti MRSA a SA v koncentraci blízké LoD. Žádná z látek v testovaných koncentracích funkčnost testu Panther Fusion MRSA neovlivnila.

Tabulka 9: Potenciálně interferující látky

Typ	Látka	Aktivní složky	Koncentrace
Endogenní	Krev	100 % lidská krev	5 obj. %
	Mucin	Bovinní mucin z podčelistní žlázy	0,5 % hmot./obj.
	Afrin	0,05 % oxymetazolin hydrochlorid	15 obj. %
Volně prodejně léky	Dristan Nasal Mist	0,05 % oxymetazolin hydrochlorid	15 obj. %
	Otrivin	0,1 % xylometazolin hydrochlorid	15 obj. %
	Saline Nasal Spray	0,65 % chlorid sodný (0,65 %)	15 obj. %
	Neo-Synephrine	1,0 % fenylefrin hydrochlorid	15 obj. %
	Chloroseptic Throat Lozenges	0,4 % benzokain (15 mg v 1 pastilce) a 0,3 % metanol (10 mg v 1 pastilce)	15 % hmot./obj.
	Zicam Nasal Gel	0,05 % oxymetazolin hydrochlorid	15 % hmot./obj.
	Flonase	0,05 % flutikason-propionát	15 obj. %
	NasalCrom Nasal Spray	Kromolyn sodný	15 obj. %

Tabulka 9: Potenciálně interferující látky (pokračování)

Typ	Látka	Aktivní složky	Koncentrace
Léky na předpis	Taro-Mupirocin, Mupirocin Ointment USP, 2 %	Mupirocin	0,5 mg/ml
	Relenza	5 mg zanamiviru	2,0 mg/ml
	Tobramycin	Tobramycin	4,5 mg/ml
	Flunisolide Nasal Solution USP, 0,025 %	Flunisolid	0,12 mg/ml
	Beconase AQ	Beklometason	0,4 mg/ml

obj./obj. = objem/objem, hmot./obj. = hmotnost/objem.

Přenos / křížová kontaminace

Přenos a křížová kontaminace byly hodnoceny v devíti samostatných bězích na třech přístrojích. Každý běh zahrnoval promíchané negativní vzorky (SNM) a vysoce pozitivní vzorky (SNM obsahující 5×10^7 KTJ/ml MRSA). Míra přenosu činila 0,0 %.

Preciznost testu

Preciznost testu Panther Fusion MRSA byla hodnocena u uměle připravených vzorků v koncentraci na úrovni LoD nebo v její blízkosti třemi operátory při dvou samostatných bězích denně s použitím tří šarží reagentů na třech přístrojích Panther Fusion po dobu 35 dnů.

Tabulka 10 ukazuje míru positivity (%) a procentuální shodu (95 % CI). Tabulka 11 zobrazuje analýzu hodnot Ct pro střední hodnoty a variabilitu mezi přístroji, mezi operátory, mezi šaržemi, mezi dny, mezi běhy a v rámci běhů a celkové hodnoty Ct.

Tabulka 10: Procentuální shoda s očekávanými výsledky

Cíl	Prvek panelu		% pozitivních pro typ cíle (počet pozitivních / počet platných)	% shoda (95 % CI)
	Popis	Koncentrace (v SNM)		
MRSA	Středně pozitivní MRSA	MRSA při 2–3× LoD	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7–100 %)
	Slabě pozitivní MRSA	MRSA při 1–2× LoD	99,4 % (159/160)	99,4 % (96,5–99,9 %)
SA	Středně pozitivní SA	SA při 2–3× LoD	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7–100 %)
	Slabě pozitivní SA	SA při 1–2× LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7–100 %)
Negativní	Negativní	Pouze SNM (bez obohacení)	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7–100 %)

CI = interval spolehlivosti, LoD = mez detekce, SNM = simulovaná nazální matrice.

Tabulka 11: Variabilita hodnoty Ct

Prvek panelu	Cíl	Poč. POZ.	Průměrné Ct	Mezi přístroji		Mezi uživateli		Mezi šaržemi		Mezi dny		Mezi cykly		V rámci cyklu		Celkem	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Středně pozitivní 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
Slabě pozitivní 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
Středně pozitivní 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
Slabě pozitivní 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
Negativní	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 = prahová hodnota cyklu, CV = variační koeficient, POS = pozitivní, SD = směrodatná odchylka.

Literatura

1. Murray, P., Rosenthal, K., Kobayashi, G., and Pfaller, M. 2002. Medical Microbiology (4. vyd.), str. 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: 10.1128/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 online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19688>.
7. Ventola, C.L. 2015. The antibiotic resistance crisis: Část 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. Institut pro klinické a laboratorní standardy. Document M29: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Webová stránka institutu CLSI, <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Přístup: září 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>.

Kontaktní údaje a historie revizí



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



Adresa zadavatele v Austrálii:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincielaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Emailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb dané země naleznete na adrese www.hologic.com/support.

Tento produkt je určen pouze pro použití v humánní diagnostice in vitro.

V případě vážného incidentu informujte výrobce a příslušný úřad ve vašem regionu.

Hologic, Aptima, Cleavase, Invader, Invader Plus, Panther a Panther Fusion a související loga jsou ochranné známky a/nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc., nebo jejích dceřiných společností v USA a/nebo jiných zemích.

ESwab je ochranná známka společnosti Copan Diagnostics, Inc.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce www.hologic.com/patents.

©2017–2022 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-22789-2601 Rev. 001
Červen 2022

Historie revizí	Datum	Popis
AW-22789-001-Rev. 001	Červen 2022	- Vytvoření návodu k použití testu Panther Fusion MRSA na základě AW-18028-001 Rev. 003 za účelem shody s nařízením IVDR. - Aktualizace souhrnu a vysvětlení testu, klinické funkčnosti, analytické reaktivity (inkluzivnosti) a informací o studii přenosu / křížové kontaminace a části Požadované materiály dostupné samostatně. - Aktualizovány kontaktní údaje včetně: zástupce pro ES, označení CE, informací o zástupci v Austrálii a oddělení technické podpory. - Různé aktualizace týkající se stylu a formátování.