

MRSA Assay (Panther Fusion™ System)

Gebrauchsanweisung
 Für *In-vitro*-Diagnosen
 Nur zum US-Export

INHALT

Allgemeine Informationen 2

 Verwendungszweck 2

 Zusammenfassung und Testerklärung 2

 Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung 3

 Verfahrensprinzipien 3

 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen 4

 Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien 7

 Probenentnahme und -lagerung 8

Panther Fusion System 9

 Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien 9

 Erforderliche und nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien 9

 Testverfahren mit dem Panther Fusion System 11

 Verfahrenshinweise 12

Qualitätskontrolle 13

 Negativ- und Positivkontrollen 13

 Interne Kontrolle 13

Interpretation der Ergebnisse 14

Einschränkungen 15

Testleistung auf dem Panther Fusion System 16

 Reproduzierbarkeit des Assays 16

 Klinische Leistungsdaten 17

 Analytische Sensitivität 19

 Analytische Reaktivität (Inklusivität) 19

 Analytische Spezifität 19

 Interferenzkonkurrenz 21

 Interferenz 21

 Verschleppung/Kreuzkontamination 22

 Assay-Genauigkeit 22

Bibliographie 24

Kontaktinformationen und Änderungsprotokoll 25

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Panther Fusion™ MRSA Assay ist ein automatischer *In-vitro*-Diagnostest, der Invader Plus™-Chemie für den qualitativen Nachweis und die Differenzierung der DNA des *Staphylococcus aureus* (SA) und des methicillinresistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) aus Nasenabstrichen verwendet. Dieser Assay ist für die Verwendung auf dem Panther Fusion System zur Prävention und Kontrolle von MRSA/SA-Infektionen in medizinischen Einrichtungen bestimmt.

Zusammenfassung und Testerklärung

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) gilt als Bestandteil der normalen Flora des Menschen und kann sich in den vorderen Nasenöffnungen, dem Rachenraum, dem Perineum, der Leiste und auf der Haut ansiedeln.¹ Die Mehrheit der Träger ist asymptomatisch und die sich ansiedelnden Bakterien verursachen keine Erkrankungen. In medizinischen Einrichtungen können *S.-aureus*-Infektionen jedoch schwere oder tödliche Folgen haben. Die Symptome invasiver *S.-aureus*-Infektionen reichen von leichten Hautinfektionen (Furunkel und Abszesse) bis zu einer Bakteriämie, Sepsis, Endokarditis, Osteomyelitis und Pneumonie.¹

Der weit verbreitete Einsatz des β -Lactam-Antibiotikums Methicillin, eine Weiterentwicklung von Penicillin, führte zu der Entstehung bestimmter antibiotikaresistenter *S. aureus* - Stämme, genannt Methicillin-resistenter *S. aureus* (MRSA). Antibiotikaresistenz in MRSA wird größtenteils durch die Exprimierung des *mecA*-Gens übertragen, welches von dem mobilen genetischen Element getragen wird, das bekannt ist als staphylococcal chromosomal cassette *mec* (SCC*mec*). Das *mecA*-Gen enkodiert das Penicillin-bindende Protein 2a (PBP2a). Hierbei handelt es sich um ein Enzym, das an der Zellwandsynthese beteiligt und resistent gegen die Hemmung durch β -Lactam-Antibiotika ist.¹ 2011 wurde ein alternatives Gen mit ähnlichem Resistenzmechanismus, *mecC*, für einige *S. aureus*-Stämme beschrieben.^{2,3} Der Panther Fusion MRSA Assay weist das Vorhandensein von *mecA* oder *mecC* nach sowie die Eintrittsstelle von SCC*mec* in einem konservierten offenen Leseraster (*orfX*) im *S. aureus*-Genom, auch bekannt als die *orfX*/SCC*mec*-Kreuzung.

Genetische Entfernungen im SCC*mec*-Element können zum Fehlen eines funktionellen *mecA*-Gens führen, aus dem eine sogenannte „Leere-Kassette-Variante“ resultiert, die von bestimmten Methicillin-empfindlichen *S. aureus* (MSSA)-Stämmen geführt wird, welche die *orfX*/SCC*mec*-Zielsequenz enthalten, aber negativ für *mecA*/*mecC* -Signale sind. Koagulase-negative Staphylokokken (CoNS)-Arten wie *Staphylococcus epidermidis*, das üblicherweise die Haut besiedelt, können auch das *mecA*-Gen⁴ tragen, aber sie tragen nicht die *S. aureus*-spezifische *orfX*/SCC*mec* Kreuzung-Zielsequenz. Zur Vermeidung von falsch-positiven Ergebnissen aus „leeren Kassetten“-Varianten oder Patientenproben mit gemischten Staphylokokkenarten⁵ weist der Panther Fusion MRSA Assay daher gleichzeitig das Vorhandensein von *mecA*/*mecC* und *orfX*/SCC*mec*-Kreuzungs-Targets nach, um MRSA zu identifizieren. Der Panther Fusion MRSA Assay weist außerdem eine für *S.aureus* spezifische GAPDH-Variante nach und kann daher medikamentenanfällige SA von medikamentenresistenten Stämmen unterscheiden.

MRSA gilt als wesentliche Ursache krankenhausbedingter Infektionen in der EU.⁶ Aufgrund seiner hochinvasiven Beschaffenheit und des begrenzten Ansprechens auf Behandlungen ist der MRSA eine immense klinische Belastung mit hoher Morbidität und Mortalität.⁷ Aufgrund der hohen Prävalenz unter Krankenhauspatienten ist eine präzise und schnelle Identifizierung des MRSA erforderlich, um eine effektive antimikrobiellen Therapie einzuleiten und die Ausbreitung von MRSA-Infektionen zu bremsen.⁸ Als schnellere Alternative zu den herkömmlichen, zeitintensiven Kulturmethode wurden molekulare Methoden für den Nachweis von MRSA eingeführt.

Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung

Die SSP (Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung, Summary of Safety and Performance) ist in der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) verfügbar und dort mit den Gerätekennungen (Basis UDI-DI) verknüpft. Die SSP für den Panther Fusion MRSA Assay finden sie unter der grundlegenden eindeutigen Gerätekennung (Basic Unique Device Identifier, BUDI): 54200455DIAGPFMRSADE.

Verfahrensprinzipien

Im Panther Fusion System wird die gesamte Probenbearbeitung (Zytolyse, Nukleinsäure-Capture, Amplifikation und Nachweis) für den Panther Fusion MRSA Assay vollständig automatisch ausgeführt. Eine interne Kontrolle (IC-X) wird jeder Probe automatisch über das Fusion Capture Arbeitsreagenz-X (wFCR-X) zur Überwachung hinsichtlich Interferenzen während der Probenbearbeitung, Amplifikation und dem Nachweis hinzugefügt, die durch ein Versagen der Reagenzien oder der inhibitorischen Substanzen verursacht werden.

Hinweis: Das Panther Fusion System fügt IC-X zu FCR-X hinzu. Nach dem Hinzufügen von IC-X zu FCR-X wird dieses als „wFCR-X“ bezeichnet.

Probenbearbeitung und Nukleinsäure-Capture: Die Proben werden zuerst in einem alkalischen Reagenz inkubiert (Panther Fusion-Enhancer-Reagenz-X; FER-X), um die Zellen zu lysieren. Die während der Lyse freigesetzte Nukleinsäure hybridisiert zu Magnetpartikeln in FCR-X. Die eingefangenen Partikel werden durch Waschstschritte mit einem milden Reinigungsmittel in einem Magnetfeld von der Restprobenmatrix getrennt. Die eingefangene Nukleinsäure wird anschließend mithilfe eines Reagenz mit niedriger Ionenstärke (Panther Fusion Elutionspuffer) aus den Magnetpartikeln herausgelöst.

Multiplex-PCR-Amplifikation und Invader™-Nachweis: Der gefriergetrocknete Master Mix für die Dosisreaktion einer Einheit wird mit dem Panther Fusion Rekonstitutionspuffer II rekonstituiert und mit der eluierten Nukleinsäure in einem Reaktionsröhrchen kombiniert. Das Panther Fusion-Öl-Reagenz wird hinzugefügt, um eine Verdampfung während der Invader Plus-Reaktion zu verhindern.

Eine Invader Plus-Reaktion ist eine Kombination von Polymerase-Kettenreaktionen(PCR)- und Invader-Chemikalien. Die PCR-basierte Target-Amplifikation tritt mit Target-spezifischen Vorwärts- und Rückwärtsprimern auf. Target-Nachweis und Signalerzeugung werden über Invader-Chemie erreicht. Während der Nachweisphase hybridisieren eine primäre, unmarkierte Sonde und ein eindringendes Oligonucleotid zu der Ziel-DNA, wobei ein ternärer DNA-Komplex gebildet wird, der von einem Cleavase™-Enzym erkannt und gespalten wird. Diese Spaltreaktion setzt ein Target-spezifisches Spaltprodukt der primären Sonde frei. Das Target-spezifische Spaltprodukt hybridisiert anschließend zu einer entsprechenden Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer(FRET)-Kassette und führt zu einer weiteren Spaltreaktion. Bei jeder Spaltung einer FRET-Kassette werden das entsprechende Fluorophor und der Quencher getrennt, wodurch es zu einem Anstieg des messbaren Fluoreszenzsignals kommt.⁹ Der Assay verwendet Target-spezifische primäre Sonden und gepaarte FRET-Kassetten mit spektral unterscheidbaren Fluorophoren für *orfX/SCCmec*, *mecA/C*, die Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) und interne Kontrolltargets. Der Assay hat eine GAPDH-Isoform als Zielregion, die spezifisch für *S. aureus* ist. Die Panther Fusion MRSA Assay-Software berechnet einen Zyklusschwellenwert (CT) aus dem kumulierten Fluoreszenzsignal in jedem Fluoreszenzkanal, um das Vorhandensein jedes Targets qualitativ zu bestimmen.

Die Targets und die entsprechenden Fluoreszenzkanäle, die im Panther Fusion MRSA Assay verwendet werden, sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Target	Kanal
<i>orfX</i> /SCC <i>mec</i> -Kreuzung	FAM
<i>mecA/C</i> -Gen	HEX
GAPDH-Gen	ROX
Interne Kontrolle	RED677

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. Für *In-vitro*-Diagnosen.
- B. Für den professionellen Einsatz.
- C. Die vollständige Packungsbeilage und das *Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System* sorgfältig lesen.

Laborbezogen

- D. Das Panther Fusion Verstärkungsreagenz-X (FER-X) ist ätzend, gesundheitsschädlich beim Verschlucken und verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
- E. Diese Verfahren sollten nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung dieses Assays und in der Handhabung potenziell infektiösen Materials entsprechend geschult sind. Bei Materialverschüttung sind die betroffenen Flächen unter Einhaltung entsprechender vor Ort gültiger Verfahren sofort zu desinfizieren.
- F. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assays sind die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen zu befolgen. Der Laborleiter muss die richtigen Handhabungs- und Entsorgungsverfahren festlegen. Es darf nur Personal, das in der Handhabung von infektiösen Materialien geschult wurde, gestattet werden, dieses Diagnoseverfahren auszuführen.¹⁰
- G. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.
- H. Beim Umgang mit Proben und Reagenzien ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel tragen. Nach dem Umgang mit Proben und Reagenzien die Hände gründlich waschen.
- I. Sämtliches Material, das mit den Proben und Reagenzien in Kontakt gekommen ist, gemäß den geltenden regionalen, nationalen und internationalen Vorschriften entsorgen.

Probenbezogen

- J. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerungsbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.
- K. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Bakterien oder anderen Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte


Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Wechseln Sie die Handschuhe, wenn diese mit Proben in Kontakt kommen.






- L. Das ESwab-Entnahmekit bei Beschädigung oder nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Hinweise zum Assay

- M. Reagenzien und Kontrollen nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- N. Die Assay-Bestandteile unter den empfohlenen Lagerungsbedingungen aufbewahren. Siehe *Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien und Testverfahren mit dem Panther Fusion System* für weitere Informationen.
- O. Assayreagenzien oder Flüssigkeiten nicht miteinander kombinieren. Reagenzien oder Flüssigkeiten nicht nachfüllen; das Panther Fusion System verifiziert den Füllstand der Reagenzien.
- P. Eine mikrobielle und Nuklease-Kontamination der Reagenzien ist zu vermeiden.
- Q. Qualitätskontrollanforderungen sind in Übereinstimmung mit örtlichen, bundesstaatlichen und/oder bundesweiten regulatorischen oder Akkreditierungs-Anforderungen und den Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors zu erfüllen.
- R. Die Assay-Kassette nicht verwenden, wenn der Aufbewahrungsbeutel nicht mehr verschlossen oder die Folie der Assay-Kassette beschädigt ist. Verständigen Sie den technischen Kundendienst von Hologic, wenn einer dieser Fälle eintritt.
- S. Verwenden Sie keine beschädigten oder auslaufenden Flüssigkeitspakete. In diesem Fall den technischen Kundendienst von Hologic kontaktieren.
- T. Die Assay-Kassetten vorsichtig behandeln. Die Assay-Kassetten nicht fallenlassen oder umdrehen. Vermeiden Sie eine längere Einstrahlung von Umgebungslicht.
- U. Einige der mit dem Panther Fusion MRSA Assay verwendeten Reagenzien sind mit Gefahren- und Sicherheitssymbolen gekennzeichnet.

Hinweis: Die Informationen zur Vermittlung von Gefahren entsprechen den Klassifikationen der EU und Nordamerikas für Sicherheitsdatenblätter (SDB). Spezifische Informationen zur Vermittlung von Gefahren für Ihre Region finden Sie in dem regionalspezifischen SDS in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung (Safety Data Sheet Library) unter www.hologicds.com. Weitere Informationen zu anderen Symbolen finden Sie in der Symbollegende auf www.hologic.com/package-inserts.

Gefahrenhinweise für Europa	
	<p>Panther Fusion Oil POLYDIMETHYLSILOXANE 100 %</p> <p>ACHTUNG H315 - Verursacht Hautreizungen H319 - Verursacht schwere Augenreizung</p>

	Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) <i>LITHIUMHYDROXID, MONOHYDRAT 5–10 %</i>
	GEFAHR H302 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken H314 - Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden P260 - Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen P280 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen P303 + P361 + P353 - BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen P305 + P351 + P338 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen P310 - Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen P280 - Augen-/Gesichtsschutz tragen
Gefahreninformationen für die USA	
	Panther Fusion Oil <i>95-100 % POLYDIMETHYLSILOXANE</i>
	WARNING H315 - Causes skin irritation H319 - Causes serious eye irritation P264 - Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing P337 + P313 - If eye irritation persists: Get medical advice/attention P302 + P352 - IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water P332 + P313 - If skin irritation occurs: Get medical advice/attention P362 - Take off contaminated clothing and wash before reuse
	Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 5–10 %</i>
	DANGER H302 - Harmful if swallowed H314 - Causes severe skin burns and eye damage P264 - Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling P270 - Do not eat, drink or smoke when using this product P260 - Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapors/spray P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician P303 + P361 + P353 - IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower P363 - Wash contaminated clothing before reuse P304 + P340 - IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician P301 + P312 - IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell P330 - Rinse mouth P301 + P330 + P331 - IF SWALLOWED: rinse mouth. Do NOT induce vomiting P405 - Store locked up Dispose of contents/container to an approved waste disposal plant

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

A. Die folgende Tabelle enthält die Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für diesen Assay.

Reagenz	Lagerung im ungeöffneten Zustand	Haltbarkeit im System/ außerhalb des Systems ¹	Offene Lagerung
Panther Fusion MRSA Assay-Kassette	2°C bis 8°C	60 Tage	2°C bis 8°C ²
Panther Fusion Capture Reagent-X (FCR-X)	15°C bis 30°C	30 Tage	15°C bis 30°C
Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X)	15°C bis 30°C	30 Tage	15°C bis 30°C
Panther Fusion interne Kontrolle-X (IC-X)	2°C bis 8°C	(im wFCR-X)	Nicht zutreffend
Panther Fusion Elutionspuffer	15°C bis 30°C	60 Tage	15°C bis 30°C
Panther Fusion Öl	15°C bis 30°C	60 Tage	15°C bis 30°C
Panther Fusion Rekonstitutionspuffer II	15°C bis 30°C	60 Tage	15°C bis 30°C
Panther Fusion MRSA Positivkontrolle	2°C bis 8°C	Fläschchen für den Einmalgebrauch	Nicht zutreffend - Einmalgebrauch
Panther Fusion Negativkontrolle II	2°C bis 8°C	Fläschchen für den Einmalgebrauch	Nicht zutreffend - Einmalgebrauch

Wenn Reagenzien aus dem Panther Fusion System herausgenommen werden, sind sie sofort wieder bei ihren jeweiligen Lagerungstemperaturen zu lagern.

¹ Die Haltbarkeit im System beginnt für die Panther Fusion MRSA Assay-Kassette, FCR-X, FER-X und IC-X ab dem Zeitpunkt, an dem das Reagenz im System platziert wird. Die Haltbarkeit im System für den Panther Fusion Rekonstitutionspuffer II, Panther Fusion Elutionspuffer und das Panther Fusion-Öl-Reagenz beginnt ab dem Zeitpunkt, an dem die Reagenzpackung zum ersten Mal verwendet wird.

² Wenn die Assay-Kassette aus dem Panther Fusion System entnommen wird, ist sie in einem luftdichten Behälter mit Trockenmittel bei der empfohlenen Lagerungstemperatur aufzubewahren.

- B. Das wFCR-X und -FER-X sind 60 Tage lang stabil, wenn sie verschlossen bei 15°C bis 30°C gelagert werden. Nicht gekühlt lagern.
- C. Entsorgen Sie alle nicht verwendeten Reagenzien, die ihre Haltbarkeit im System überschritten haben.
- D. Kontrollen sind bis zum auf dem jeweiligen Fläschchen angegebenen Datum stabil.
- E. Bei Handhabung und Lagerung der Reagenzien Kreuzkontamination vermeiden.
- F. **Reagenzien nicht einfrieren.**

Probenentnahme und -lagerung

Proben – Von einem Patienten entnommenes klinisches Material, das in ein passendes Transportsystem gefüllt wird. Für den Panther Fusion MRSA Assay sind dies die ESwab-Entnahme und das Transportsystem.

Proben – Ein allgemeinerer Begriff zur Beschreibung aller Materialien, die auf dem Panther Fusion System getestet werden, einschließlich Proben und Kontrollen.

Hinweis: *Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu handhaben. Es sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen zu treffen.*

Hinweis: *Achten Sie bei den Schritten, die eine Handhabung von Proben erfordern, darauf, eine Kreuzkontamination zu vermeiden. Benutztes Material ist beispielsweise so zu entsorgen, dass es nicht über geöffnete Röhrchen geführt wird.*

A. Probenentnahme

Entnehmen Sie eine ESwab-Probe aus beiden Nasenlöchern entsprechend dem Standardverfahren Ihrer Einrichtung oder verwenden Sie folgende Anleitung:

1. Hände waschen und saubere Handschuhe überstreifen.
2. Tupferverpackung öffnen und den Tupfer aus der Verpackung nehmen.
3. Den beflockten Teil des Tupfers vorsichtig in das Nasenloch des Patienten einführen.
4. Den Tupfer vorsichtig andrücken und 3 bis 5 Mal entlang der Innenseite des Nasenlochs rollen.
5. Den Vorgang mit demselben Tupfer im anderen Nasenloch des Patienten wiederholen.

Hinweis: *Zur Vermeidung von Kontaminationen ist darauf zu achten, den Tupferschaft unterhalb der Sollbruchstelle nicht zu berühren.*

6. Das Röhrchen mit 1 ml des flüssigen Amies-Transportmediums öffnen, den Probentupfer im Röhrchen platzieren und den Tupferschaft an der Sollbruchstelle abbrechen.
7. Das Röhrchen wieder verschließen und den verbleibenden Teil des Tupferschafts entsorgen.
8. Das Röhrchen bei Bedarf beschriften.
9. Handschuhe entfernen und Hände waschen.

Hinweis: *Falls das flüssige Amies-Transportmedium verschüttet wird, bevor der Tupfer im Röhrchen platziert werden konnte, platzieren Sie den Probentupfer in einem neuen Röhrchen mit 1 ml des flüssigen Amies-Transportmediums. Wenn die Flüssigkeit im Röhrchen nach Platzieren des Tupfers verschüttet wird, entnehmen Sie eine neue Nasal-Tupferprobe.*

B. Probentransport und -lagerung vor dem Test

Nach der Entnahme ist kann die Probe im Röhrchen bis zu 48 Stunden bei 15°C bis 30°C oder bis zu 5 Tage bei 2°C bis 8°C gelagert und transportiert werden.

C. Probenlagerung nach dem Test

1. Platzieren Sie die Probenröhrchen aufrecht stehend ein in einem in einem Röhrchenständer.
2. Setzen Sie eine neue Kappe auf die getesteten Proben.
3. Wenn getestete Proben versendet werden müssen, entfernen Sie die durchstechbare Kappe und ersetzen Sie sie durch eine nicht durchstechbare Kappe. Halten Sie während des Transports die in *Probentransport und -lagerung vor dem Test* beschriebenen Lagerungsbedingungen aufrecht.

Hinweis: *Ein Versand der Patientenproben muss in Übereinstimmung mit geltenden nationalen, internationalen und regionalen Frachtbestimmungen erfolgen.*

Panther Fusion System

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

Assay-Verpackung

Komponenten ¹	Kat.- Nr.	Lagerung
Panther Fusion MRSA Assay-Kassetten, 96 Tests Panther Fusion MRSA Assay-Kassette, 12 Tests, 8 pro Box	PRD-04803	2°C bis 8°C
Panther Fusion MRSA Assay-Kontrollen Panther Fusion MRSA Röhrchen Positivkontrolle, 5 pro Box Panther Fusion Röhrchen Negativkontrolle II, 5 pro Box	PRD-04805	2°C bis 8°C
Panther Fusion interne Kontrolle-X, 960 Tests Panther Fusion Röhrchen interne Kontrolle-X, 4 pro Box	PRD-04476	2°C bis 8°C
Panther Fusion Extraktionsreagenz-X, 960 Tests Panther Fusion-Capture-Reagenz-X, Flasche, 240 Tests, 4 pro Box Panther Fusion-Enhancer-Reagenz-X, Flasche, 240 Tests, 4 pro Box	PRD-04477	15°C bis 30°C
Panther Fusion Elutionspuffer 2400 Tests Panther Fusion Elutionspuffer-Packung, 1200 Tests, 2 pro Box	PRD-04334	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Rekonstitutionspuffer II, 1920 Tests Panther Fusion Rekonstitutionspuffer II, 960 Tests, 2 pro Box	PRD-04804	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Ölreagenz 1920 Tests Panther Fusion Ölreagenz, 960 Tests, 2 pro Box	PRD-04335	15 °C bis 30 °C

¹Die Komponenten können auch in folgenden Paketen bestellt werden:

Panther Fusion Universalfälligkeiten-Kit, PRD-04430, enthält je 1 Panther Fusion Öl- und Panther Fusion Elutionspuffer.

Erforderliche und nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: Die von Hologic erhältlichen Materialien sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.

Material	Kat.- Nr.
Panther System	303095
Panther Fusion Modul-Upgrade	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Aptima Assayflüssigkeitskit (Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölreagenz) (1000 Tests)	303014
Multi-Röhrchen-Einheiten (MTUs)	104772-02
Panther Entsorgungsbeutel-Kit	902731
Panther Abfallabdeckung	504405
oder Panther System Durchlaufkit für Real-Time-Assays enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abfallabdeckungen und Assayflüssigkeiten	PRD-03455 (5000 Tests)

Material	Kat.- Nr.
oder Panther System-Durchlaufkit (wenn TMA-Assays gleichzeitig mit Panther Fusion-Assays laufen) enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abfallabdeckungen, Auto Detect* und Assayflüssigkeiten	303096 (5000 Tests)
Panther Fusion-Röhrchentablets, 1.008 Tests, 18 Tablett pro Box	PRD-04000
Spitzen, 1000 µL gefiltert, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung und Einwegmaterial. Nicht alle Produkte sind in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an Ihren Vertreter, um regionsspezifische Informationen zu erhalten	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab™) Entnahme- und Transportsystem oder das vergleichbare BD™ Liquid Amies Elution Swab (ESwab) Entnahme- und Transportsystem	480C oder 480CE (Copan) 220245 (Becton Dickinson)
Aptima Durchstechverschlüsse	105668
Nicht durchstechbare Deckel (optional)	103036A
Ersatzdeckel für Extraktionsreagenzflasche	CL0040
Vortex-Mischer	—
Chlorbleiche, 5 % bis 8,25 % (0,7 M bis 1,16 M) Natriumhypochloritlösung	—
Ungepuderte Einweghandschuhe	—

*Nur für Panther Aptima TMA Assays erforderlich.

Testverfahren mit dem Panther Fusion System

Hinweis: Nähere Verfahrensinformationen finden Sie im Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System.

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

1. Die Arbeitsflächen mit einer 2,5 %igen bis 3,5 %igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung abwischen. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie diese anschließend mit entionisiertem Wasser ab. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen. Die Labortischoberflächen mit sauberen, saugfähigen Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite abdecken.

B. Reagenzvorbereitung

1. Die Flaschen mit IC-X, FCR-X und FER-X aus der Lagerung nehmen.
2. Die Flaschen mit IC-X, FCR-X und FER-X öffnen und die Kappen entsorgen. Die TCR-Tür am oberen Fach des Panther Fusion Systems öffnen.
3. Die Flaschen mit IC-X, FCR-X und FER-X in die entsprechenden Positionen des TCR-Karussells stellen.
4. Die TCR-Tür schließen.

Hinweis: Das Panther Fusion System fügt IC-X zu der Flasche mit FCR-X hinzu. Nach dem Hinzufügen von IC-X zu FCR-X wird dieses als „wFCR-X“ bezeichnet. Wenn das wFCR-X und das FER-X aus dem System genommen werden, müssen neue Deckel verwendet und die Flaschen sofort unter den richtigen Lagerungsbedingungen aufbewahrt werden.

C. Probenhandhabung

1. Geben Sie jede Probe für 5 Sekunden in den Vortex-Mischer. Drehen Sie das Röhrchen nicht um.
2. Entfernen Sie die Kappe des Röhrchens und nehmen Sie den Tupfer heraus.
3. Entsorgen Sie die Kappe des Röhrchens und den Tupfer nach den Laborrichtlinien.
4. Setzen Sie eine durchstechbare Kappe auf das Röhrchen.
5. Prüfen Sie die Probenröhrchen vor dem Laden in den Ständer. Wenn ein Probenröhrchen Blasen enthält oder ein geringeres Volumen als üblicherweise besitzt, klopfen Sie leicht auf den Boden des Röhrchens, um Blasen zu entfernen und damit der Inhalt auf den Boden sinkt.

Hinweis: Stellen Sie sicher, dass das Probenvolumen größer ist als 500 µL, um Bearbeitungsfehler zu vermeiden. Es ist ausreichend Volumen vorhanden, um 2 Panther Fusion-Reaktionen von einer mit dem ESwab-Entnahmekit entnommenen Probe durchzuführen.

D. Vorbereitung des Systems

Informationen über die Einrichtung des Panther Fusion Systems einschließlich Laden der Proben, Reagenzien, Assay-Kassetten und Universalflüssigkeiten finden Sie in der Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System.

Verfahrenshinweise

A. Kontrollen

1. Die Panther Fusion MRSA Positivkontrolle und die Panther Fusion Negativkontrolle II können in jede beliebige Ständerposition in jeder Bahn im Probenfach des Panther Systems geladen werden.
2. Nachdem die Kontrollröhrchen pipettiert und für den Panther Fusion MRSA Assay vorbereitet wurden, sind sie für bis zu 30 Tage gültig (von einem Administrator konfigurierte Kontrollfrequenz), es sei denn, die Kontrollergebnisse sind ungültig oder eine neue Assay-Kassettencharge wird geladen.
3. Die Panther Fusion MRSA Positivkontrolle und die Panther Fusion Negativkontrolle II können Trübungen oder Präzipitate aufweisen, die die Testergebnisse nicht beeinflussen. Die Präzipitate lösen sich auf, wenn die Kontrollen vor der Verarbeitung Raumtemperatur erreichen können. **Die Kontrollen nicht in den Vortex-Mischer geben.**
4. Jedes Kontrollröhrchen kann einmal getestet werden.
5. Die Pipettierung der Patientenproben beginnt, sobald eine der beiden folgenden Bedingungen erfüllt ist:
 - a. Gültige Ergebnisse für die Kontrollen werden auf dem System registriert.
 - b. Das System behandelt derzeit einen Satz Assaykontrollen.

Qualitätskontrolle

Die Panther Fusion MRSA Assay-Software annulliert möglicherweise einen Durchlauf oder ein Probenergebnis, wenn während der Durchführung des Assays Probleme aufgetreten sind. Proben mit ungültigen Ergebnissen müssen erneut getestet werden.

Negativ- und Positivkontrollen

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss ein Satz von Assay-Kontrollen getestet werden. Ein Replikat der Panther Fusion MRSA-Positivkontrolle und der Panther Fusion-Negativkontrolle II müssen jedes Mal getestet werden, wenn eine neue Assay-Kassettencharge in das Panther Fusion System geladen wird oder wenn das aktuelle Set gültiger Kontrollen für eine aktive Assay-Kassettencharge das Verfallsdatum überschritten hat.

Das Panther Fusion System ist so konfiguriert, dass Assaykontrollen in einem vom Administrator festgelegten Intervall von bis zu 30 Tagen durchgeführt werden. Die Software des Panther Fusion Systems warnt den Anwender, wenn Assaykontrollen notwendig sind und beginnt neue Tests erst, wenn die Assaykontrollen geladen wurden und die Verarbeitung begonnen hat.

Während der Verarbeitung werden die Annahmekriterien für die Assaykontrollen vom Panther Fusion System automatisch verifiziert. Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse müssen die Assaykontrollen eine Reihe von Gültigkeitsprüfungen bestehen, die vom Panther Fusion System durchgeführt werden.

Wenn die Assaykontrollen alle Gültigkeitsprüfungen bestanden haben, werden sie für das vom Administrator festgelegte Zeitintervall als gültig erachtet. Wenn dieses Zeitintervall abgelaufen ist, sind die Assaykontrollen für das Panther Fusion System verfallen und ein neues Assaykontrollset ist notwendig, bevor neue Probendurchläufe begonnen werden.

Wenn eine der Assaykontrollen die Gültigkeitsprüfungen nicht besteht, annulliert das Panther Fusion System automatisch die betroffenen Proben, und es ist die Testung eines neuen Assaykontrollsets erforderlich, bevor neue Probendurchläufe begonnen werden.

Interne Kontrolle

Während der automatischen Probenbearbeitung auf dem Panther Fusion System wird jeder Probe automatisch eine interne Kontrolle hinzugefügt. Während der Verarbeitung werden die Annahmekriterien für interne Kontrollen von der Software auf dem Panther Fusion System automatisch verifiziert. Der Nachweis der internen Kontrolle ist nicht erforderlich für Proben, die für jedes Assay-Target positiv sind. Die interne Kontrolle muss in allen Proben nachgewiesen werden, die negativ für ein Assay-Target sind. Proben, die die Kriterien nicht erfüllen, werden als ungültig berichtet. Jede Probe mit einem ungültigen Ergebnis muss erneut getestet werden.

Die Software für das Panther Fusion System dient zur genauen Verifizierung der Prozesse, wenn Verfahren gemäß den Anweisungen in der Packungsbeilage und im *Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System* durchgeführt werden.

Interpretation der Ergebnisse

Die Panther Fusion MRSA Assay-Software bestimmt automatisch die Ergebnisse für Proben und Kontrollen. Ergebnisse für die SA und MRSA werden separat ausgewiesen. Ein Ergebnis kann SA negativ und MRSA negativ, SA-positiv und MRSA negativ, SA-positiv und MRSA-positiv oder ungültig sein. Proben mit ungültigen Ergebnissen müssen erneut getestet werden.

Tabelle 1 zeigt die möglichen Ergebnisse, die mit den Interpretationen des entsprechenden Ergebnisses angegeben werden.

Tabelle 1: Testauswertung

orfX/SCCmec (FAM)	mecA/C (HEX)	GAPDH (ROX)	Interne Kontrolle (RED677)	Ergebnis	
				MRSA	SA
+	+	+	+ / -	Positiv	Positiv
+	-	+	+ / -	Negativ	Positiv
-	+	+	+ / -	Negativ	Positiv
-	-	+	+ / -	Negativ	Positiv
+	-	-	+ / -	Negativ	Negativ
-	+	-	+ / -	Negativ	Negativ
+	+	-	+ / -	Negativ	Negativ
-	-	-	+	Negativ	Negativ
-	-	-	-	Ungültig	Ungültig

Einschränkungen

- A. Dieser Test darf nur von Mitarbeitern durchgeführt werden, die in der Durchführung des Tests unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung dieser Anweisungen kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.
- B. Zuverlässige Ergebnisse hängen von der korrekten Entnahme, dem Transport, der Lagerung und der Verarbeitung der Patientenproben ab.
- C. Eine Kontamination ist durch Einhaltung der guten Laborpraxis und der in der vorliegenden Packungsbeilage angegebenen Vorgehensweise zu vermeiden.
- D. Der Panther Fusion MRSA Assay wurde nur für die Verwendung mit Nasenabstrichen validiert, die mit dem Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) Entnahme- und Transportsystem oder dem gleichwertigen BD™ Liquid Amies Elution Swab (ESwab) Entnahme- und Transportsystem entnommen wurden.
- E. Nasenabstriche sind gemäß den Vorgehensweisen zu entnehmen, die in der Packungsbeilage des ESwab Entnahme- und Transportsystems beschrieben ist.
- F. Neue MRSA- oder SA-Stämme mit Mutationen oder Polymorphismen in Primer- oder Sondenbindungsbereichen werden möglicherweise nicht mit dem Panther Fusion MRSA Assay nachgewiesen. Proben, die positiv für GAPDH und *mecA/mecC*-Targets, aber negativ für das *orfX/SCCmec* -Kreuzungs-Target sind, können aufgrund neuer oder ungewöhnlicher MRSA SSCmec/MREJ-Typen falsch negative Ergebnisse darstellen. Für solche Proben ist ggf. eine weitere Unterscheidung mittels alternativer Detektionsmethoden erforderlich.
- G. Der Panther Fusion MRSA Assay generiert möglicherweise ein falsch-positives MRSA-Ergebnis bei dem Testen eines Nasenabstrichs mit Mischinfektionen, der methicillinresistente Koagulase-negative Staphylokokken und Leere-Kassette-SA enthält.
- H. *S. argenteus*, eine koagulasepositive Spezies der Gattung *Staphylokokkus*, die eng mit dem *S. aureus* verwandt ist, ist zwar selten, kann aber zu einem falsch-positiv-Ergebnis im Panther Fusion MRSA Assay führen.

Testleistung auf dem Panther Fusion System

Reproduzierbarkeit des Assays

Die Reproduzierbarkeit des Panther Fusion MRSA Assays wurde an drei Standorten mithilfe eines 5-Element-Reproduzierbarkeits-Panels beurteilt. Die Tests wurden unter Verwendung von einer Charge Testreagenzien von sechs Anwendern (zwei an jedem Standort) durchgeführt. An jedem Standort wurden die Tests zwei Mal pro Jahr (ein Durchlauf pro Anwender) für mindestens fünf Tage durchgeführt. Für jeden Durchlauf gab es drei Replikate jeder Panelprobe.

Die Panelproben sind in Tabelle 2 beschrieben, neben einer Zusammenfassung der Übereinstimmung der erwarteten Ergebnisse für jede Panelprobe. Tabelle 3 zeigt die Durchschnitts- und Schwankungsanalyse zwischen Standorten, zwischen Anwendern, zwischen Tagen, zwischen Durchläufen und innerhalb von Durchläufen sowie insgesamt für Ct-Werte.

Tabelle 2: Prozentsatz der Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen

Panelprobe		% Übereinstimmung			Vollständige Übereinstimmung
Beschreibung	Konzentration	Standort 1	Standort 2	Standort 3	
MRSA mäßig positiv	MRSA bei 2-3X LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
MRSA schwach positiv	MRSA bei 1-2X LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
SA mäßig positiv	SA bei 2-3X LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
SA schwach positiv	SA bei 1-2X LoD	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Negativ	SNM nicht versetzt	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)

LoD = Nachweisgrenze, SNM = Simulierte nasale Matrix.

Tabelle 3: Variabilität von Ct-Werten

Panelprobe			POS. n	Mittlerer Ct	Zwischen Standorten		Zwischen Anwendern		Zwischen Tagen		Zwischen Läufen		Innerhalb eines Laufes		Gesamt	
Beschreibung	Konzentration	Target			SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK
MRSA mäßig positiv	MRSA bei 2-3X LoD	<i>orfX1</i> <i>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>mecA/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
MRSA schwach positiv	MRSA bei 1-2X LoD	<i>orfX1</i> <i>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>mecA/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
SA mäßig positiv	SA bei 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 schwach positiv	SA bei 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
Negativ	Nur SNM (nicht versetzt)	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 = Zyklusschwellenwert, VK = Variationskoeffizient, LoD = Nachweisgrenze, POS.= positiv, SD = Standardabweichung, SNM = Simulierte nasale Matrix.

Klinische Leistungsdaten

Die klinische Leistung wurde durch den Vergleich der Ergebnisse mit dem Panther Fusion MRSA Assay mit den Ergebnissen mit einem IVD-Nukleinsäuretest(NAT)-Referenzassay beurteilt.

Nasenabstriche wurden in einem amerikanischen Krankenhaus mit dem Copan ESwab Liquid Amies Transportsystem entnommen. Ein Aliquot der Probe wurde mit einem IVD-NAT-Referenzassay getestet. Die verbleibende Probe wurde eingefroren, an Hologic gesendet und mit dem Panther Fusion MRSA Assay getestet.

Insgesamt wurden 805 Proben für SA und MRSA mit dem Panther Fusion MRSA Assay und dem Referenzassay getestet.

Im Vergleich zu der Referenzmethode lagen die Sensitivität und Spezifität des Panther Fusion MRSA Assays bei jeweils 95,6 % und 96,8 % für den Nachweis von MRSA (Tabelle 4) und jeweils bei 95,9 % und 95,7 % für den Nachweis von SA (Tabelle 5).

Darüber hinaus wurden die klinischen Leistungsdaten des Panther Fusion MRSA Assay in mindestens einer Peer-Review-Studie aus der wissenschaftlichen Literatur unter Verwendung von 434 nasalen Abstrichproben bewertet, die aus einem Krankenhaus in Lyon, Frankreich stammen. Die Gesamtübereinstimmung zwischen den primären Kulturmethoden und der Testung mit dem Panther Fusion MRSA betrug 88 % (n=382/434) vor der Abweichungsanalyse. Nach der weiteren Analyse abweichender Proben mit angereicherter Kultur und einem klinisch validierten Nukleinsäuretest betrug die Übereinstimmung des Panther Fusion mit einem Konsensergebnis, das unter Verwendung von Kulturen und molekularer Referenzmethoden ermittelt wurde, 97,5 % für den SA-Nachweis (n=423/434; $\kappa = 0,943$; 95%-KI = 90,9 %; 97,6 %) und 97,9 % für den MRSA-Nachweis (n=425/434; $\kappa = 0,841$; 95%-KI = 73,9 %; 94,4 %). Die Prüfarzte der Studie schlussfolgerten, dass der Panther Fusion MRSA Assay aufgrund der herausragenden Übereinstimmung mit den Referenzmethoden ein zuverlässiges Instrument für schnelle MRSA-Screenings ist.¹¹

Tabelle 4: Leistung des Panther Fusion MRSA Assay Leistung Im Vergleich zu der Leistung des Referenzassays zum Nachweis von MRSA

MRSA	Referenzassay		Gesamt	
	POS.	NEG.		
Panther Fusion	POS.	109	22 ¹	131
MRSA Assay	NEG.	5 ¹	669	674
Gesamt		114	691	805
Sensitivität		95,6 % (109/114) (95 % KI: 90,1 % bis 98,1 %)		
Spezifität		96,8 % (669/691) (95 % KI: 95,2 % bis 97,9 %)		
PPV		83,2 % (109/131) (95 % KI: 75,9 % bis 88,6 %)		
NPV		99,3 % (669/674) (95 % KI: 98,3 % bis 99,7 %)		
Prozentuale Übereinstimmung		96,6 % (778/805) (95 % KI: 95,2 % bis 97,7 %)		

NEG. = negativ, NPV = negativer prädiktiver Wert, POS. = positiv, PPV = Positiver prädiktiver Wert.

¹ Proben, die widersprüchliche MRSA-Testergebnisse zwischen dem Panther Fusion MRSA Assay und dem Referenzassay generieren, wurden unter Verwendung einer Anreicherungskultur-Methode weiter beurteilt.

Von den 22 MRSA falsch-positiven Panther Fusion MRSA Assay-Proben waren 12 Proben nach der Anreicherung der widersprüchlichen Lösung mit einer Kultur MRSA-positiv.

Von den 5 MRSA falsch-negativen Panther Fusion MRSA Assay-Proben waren 4 Proben nach der Anreicherung der widersprüchlichen Lösung mit einer Kultur MRSA-negativ.

Tabelle 5: Leistung des Panther Fusion MRSA Assay Leistung Im Vergleich zu der Leistung des Referenzassays zum Nachweis von SA

SA	Referenzassay		Gesamt	
	POS.	NEG.		
Panther Fusion	POS.	234	24 ¹	258
MRSA Assay	NEG.	10 ¹	537	547
Gesamt		244	561	805
Sensitivität		95,9 % (234/244) (95 % KI: 92,6 % bis 97,8 %)		
Spezifität		95,7 % (537/561) (95 % KI: 93,7 % bis 97,1 %)		
PPV		90,7 % (234/258) (95 % KI: 86,5 % bis 93,7 %)		
NPV		98,2 % (537/547) (95 % KI: 96,7 % bis 99,0 %)		
Prozentuale Übereinstimmung		95,8 % (771/805) (95 % KI: 94,2 % bis 97,0 %)		

NEG. = negativ, NPV = negativer prädiktiver Wert, POS. = positiv, PPV = Positiver prädiktiver Wert.

¹ Proben, die widersprüchliche SA-Testergebnisse zwischen dem Panther Fusion MRSA Assay und dem Referenzassay generieren, wurden unter Verwendung einer Anreicherungskultur-Methode weiter beurteilt.

Von den 24 SA falsch-positiven Panther Fusion MRSA Assay-Proben waren 11 Proben nach der Anreicherung der widersprüchlichen Lösung mit einer Kultur SA-positiv.

Von den 10 SA falsch-negativen Panther Fusion MRSA Assay-Proben waren 7 Proben nach der Anreicherung der widersprüchlichen Lösung mit einer Kultur SA-negativ.

Analytische Sensitivität

Die 95-prozentigen Konfidenzintervalle für die Nachweisgrenze (LoD) von MRSA und SA mit dem Panther Fusion MRSA Assay wurden durch Testen einer simulierten nasalen Matrix (SNM), die mit mehreren Konzentrationen versetzt wurde, mit zwei MRSA-Stämmen und einem SA-Stamm bestimmt. Es wurden 21 Replikate mit drei Reagenzchargen in jeder Konzentration getestet, was zu einer Gesamtzahl von 63 Replikaten führt. Target-spezifische LoD-Konzentrationen wurden durch eine Probit-Analyse bestimmt und durch Testung von weiteren 20 Replikaten mit einer Reagenzcharge verifiziert. Die erzielte KBE/ml, die den Nachweisgrenzwert für jeden Stamm repräsentiert, wurde durch die Keimzahl bestätigt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Analytische Sensitivität

Stamm	Quelle (ID)	SCCmec Typ	Nachweisgrenze KBE/mL
<i>S. aureus</i> (SA), Seattle 1945	ATCC (25923)	n. z.	1.833
Methicillinresistenter <i>S. aureus</i> (MRSA), NYBK2464	ATCC (BAA-41)	II	2.383
Methicillinresistenter <i>S. aureus</i> (MRSA), HPV107	ATCC (BAA-44)	I	1.183

Analytische Reaktivität (Inklusivität)

Für die Bewertung der analytischen Reaktivität des Panther Fusion MRSA Assay wurde eine Sammlung zuvor charakterisierter und geografisch unterschiedlicher MRSA- und SA-Stämme verwendet. Insgesamt 106 MRSA-Stämme und 22 SA-Stämme in SNM an der Assay-LoD getestet.

Die mit dem Panther Fusion MRSA Assay getesteten MRSA-Stämme wurden an verschiedenen geografischen Standorten in 27 unterschiedlichen Ländern gesammelt und repräsentierten verschiedene SCCmec-Arten und Unterarten (I, II, III, IV, IVa-e, IVg-h, V, VI, VII, VIII, IX und XI) sowie verschiedene MREJ-Arten (i, ii, iii, iv, xii, xv, xviii und xxi). Unter den getesteten MRSA-Stämmen befand sich auch der Bengal Bay-Klon (ST772). Die minimalen Hemmstoffkonzentrationen von getesteten MRSA-Stämmen variierten von niedrig bis hoch (von 0,5 bis mehr als 256 µg/ml). Einige MRSA- und SA-Stämme wurden vorher außerdem mittels Pulsed-Field-Gelelektrophorese (PFGE) charakterisiert und es wurden verschiedene PFGE-Typen getestet (USA100-1200 including USA300-0114, CC130, WA-MRSA und Iberian). Zu den getesteten SA-Stämmen zählten 9 leere Kassettenvariantenstämme und 8 Borderline-Oxacillin-resistenten. *S.-aureus* (BORSA)-Stämme.

Alle getesteten Stämme wurden vom Panther Fusion MRSA Assay korrekt als MRSA oder SA identifiziert. Dies zeigt, dass der Panther Fusion MRSA Assay verschiedene Stämme des Methicillin-resistenten *S. aureus* korrekt als MRSA-positiv und des Methicillin-anfälligen *S. aureus* als SA-positiv und MRSA-negativ identifiziert hat.

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des Panther Fusion MRSA Assays wurde durch Testen von 95 Nichtzielorganismen beurteilt, die häufig in der Nase vorkommen (Tabelle 7). Bakterien (77 Stämme) und Hefen (2 Stämme) wurden in Konzentrationen von 10⁶ KBE/ml oder IFU/ml oder Kopien/ml getestet. Viren (16 Stämme) wurden in Konzentrationen von 10⁵ PBE/ml getestet. Jeder Organismus wurde zu der SNM hinzugefügt und bei vorhandenem und

abwesenden MRSA oder SA bei 3X LoD getestet. Es wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt. Bei Gegenwart des Organismus wurde keine Interferenz festgestellt.

Tabelle 7: Häufig in Nasenabstrichen gefundene und auf Kreuzreaktivität getestete Mikroorganismen

Viren		
Adenovirus Typ 1	Masernvirus	Influenza A H1N1
Adenovirus Typ 7A	Mumpsvirus	Parainfluenzavirus Typ 1
Cytomegalievirus	Parainfluenzavirus Typ 3	Parainfluenzavirus Typ 2
Enterovirus Typ 68	Humanes Respiratorisches Synzytial-Virus Typ B	Rhinovirus Typ 1A
Humanes Metapneumovirus (HMPV) 18 Typ B2	Coronavirus, Stamm 229E	
Influenza B	Epstein-Barr-Virus	
Bakterien und Pilze		
<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 aquaticum</i> (<i>Leifsonia aquatica</i>)	<i>Pasteurella aerogenes</i>	<i>Staphylococcus pulvereri</i>
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Corynebacterium flavescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Staphylococcus xylosum</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)	

Interferenzkonkurrenz

Mischinfektionen von MRSA mit SA, MRSA mit dem *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) und SA mit MRSE wurden mit dem Panther Fusion MRSA Assay durch Testen des Assay-Targets (MRSA oder SA) an der Nachweisgrenze in Gegenwart eines konkurrierenden mikrobiellen Organismus in hoher Konzentration beurteilt. Die in Tabelle 8 dargestellten Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Sensitivität des MRSA- und SA-Nachweises unter den getesteten Bedingungen nicht durch Mischinfektionen beeinträchtigt wurde.

Tabelle 8: Interferenzkonkurrenz

Konkurrierender Mikroorganismus		Target		Panther Fusion MRSA Assay-Ergebnis	
Beschreibung	Konzentration	Beschreibung	Konzentration	MRSA	SA
SA	1,8 x 10 ⁷ KBE/ml	MRSA	3X LoD	+	+
MRSE	1,8 x 10 ⁷ KBE/ml	MRSA	3X LoD	+	+
MRSE	2,7 x 10 ⁷ KBE/ml	SA	3X LoD	-	+

KBE = Koloniebildende Einheit, LoD = Nachweisgrenze.

Interferenz

Stoffe mit möglicher beeinträchtigender Wirkung, die möglicherweise in den Proben vorhanden sind, wurden mit dem Panther Fusion MRSA Assay beurteilt. Klinisch relevante Konzentrationen der mehrfachen endogenen und exogenen Stoffe (Tabelle 9) wurden in Abwesenheit und Gegenwart von jeweils MRSA und SA nahe der LoD getestet. Keiner der Stoffe in den getesteten Konzentrationen hat die Leistung des Panther Fusion MRSA Assay beeinträchtigt.

Tabelle 9: Substanzen mit möglicher beeinträchtigender Wirkung

Typ	Substanz	Aktive Bestandteile	Konzentration
Endogen	Blut	100 % menschliches Blut	5 % V/V
	Muzin	Bovines Muzin aus der Unterkieferdrüse	0,5 % W/V
Rezeptfreie Arzneimittel	Afrin	0,05 % Oxymetazolinhydrochlorid	15 % V/V
	Dristan Nasenspray	0,05 % Oxymetazolinhydrochlorid	15 % V/V
	Otrivin	0,1 % Xylometazolinhydrochlorid	15 % V/V
	Salzhaltiges Nasenspray	0,65 % Natriumchlorid (0,65 %)	15 % V/V
	Neo-Synephrine	1,0 % Phenylephrinhydrochlorid	15 % V/V
	Chloraseptic Halsbonbons	0,4 % Benzocain (15 mg in 1 Bonbon) und 0,3% Methanol (10 mg in 1 Bonbon)	15 % W/V
	Zicam Nasengel	0,05 % Oxymetazolinhydrochlorid	15 % W/V
	Flonase	0,05 % Fluticasonpropionat	15 % V/V
	NasalCrom Nasenspray	Cromolynnatrium	15 % V/V

Tabelle 9: Substanzen mit möglicher beeinträchtigender Wirkung (Fortsetzung)

Typ	Substanz	Aktive Bestandteile	Konzentration
Verschreibungspflichtige Medikamente	Taro-Mupirocin, Mupirocin-Salbe USP, 2 %	Mupirocin	0,5 mg/ml
	Relenza	5 mg Zanamivir	2,0 mg/ml
	Tobramycin	Tobramycin	4,5 mg/ml
	Flunisolid-Nasenspülung USP, 0,025 %	Flunisolid	0,12 mg/ml
	Beconase AQ	Beclomethason	0,4 mg/ml

V/V = Volumen/Volumen, W/V = Gewicht/Volumen.

Verschleppung/Kreuzkontamination

Verschleppung/Kreuzkontamination wurden in neun Läufen auf drei Geräten beurteilt. Jeder Lauf wurde mit verteilten negativen Proben (SNM) und hoch positiven Proben ausgeführt (SNM mit 5×10^7 KBE/ml MRSA). Die Verschleppungsrate betrug 0,0 %.

Assay-Genauigkeit

Die Genauigkeit des Panther Fusion MRSA Assay wurde mit künstlichen Proben an oder nahe der LoD von drei Anwendern in zwei separaten Durchläufen pro Tag beurteilt. Hierzu wurden drei Reagenzchargen über 35 Tage auf den Panther Fusion Geräten verwendet.

Tabelle 10 zeigt die Positivitätsrate (%) und die prozentuale Übereinstimmung (95 % VI). Tabelle 11 zeigt die Durchschnitts- und Schwankungsanalyse zwischen Geräten, zwischen Anwendern, zwischen Reagenzchargen, zwischen Tagen, zwischen Durchläufen und innerhalb von Durchläufen sowie insgesamt für CT..

Tabelle 10: Prozentsatz der Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen

Target	Panelprobe		% Positiv für Target-Typ (Positiv n/gültig n)	% Übereinstimmung (95 % KI)
	Beschreibung	Konzentration (in der SNM)		
MRSA	MRSA mäßig positiv	MRSA bei 2-3X LoD	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7 - 100 %)
	MRSA schwach positiv	MRSA bei 1-2X LoD	99,4 % (159/160)	99,4 % (96,5 - 99,9 %)
SA	SA mäßig positiv	SA bei 2-3X LoD	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7 - 100 %)
	SA schwach positiv	SA bei 1-2X LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7 - 100 %)
Negativ	Negativ	Nur SNM (nicht versetzt)	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7 - 100 %)

CI = Vertrauensintervall, LoD = Nachweisgrenze, SNM = Simulierte nasale Matrix.

Tabelle 11: Variabilität von Ct-Werten

Panelprobe	Target	POS. n	Mittlerer Ct	Zwischen Geräten		Zwischen Anwendern		Zwischen Chargen		Zwischen Tagen		Zwischen Läufen		Innerhalb eines Laufes		Gesamt	
				SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK
MRSA mäßig positiv	<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>mecA/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 schwach positiv	<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>mecA/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 mäßig positiv	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 schwach positiv	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
Negativ	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 = Zyklusschwellenwert, VK = Variationskoeffizient, POS = positiv, SA = Standardabweichung

Bibliographie

1. Murray, P., Rosenthal, K., Kobayashi, G., und 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., und 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., und 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., und Friedrich, A.W. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill.* 15(41), pii=19688. Online verfügbar unter: <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. CLSI-Website, <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Abgerufen im September 2017.
11. Maurin, E., Ranc, A. G., Abad, L., Bes, M., Gustave, C. A., Vandenesch, F., Dupieux-Chabert, C., Tristan, A., & Laurent, F. 2020. Performance of the Hologic Panther Fusion® MRSA Assay for the nasal screening of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 39(11), 2169–2176. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03968-8>.

Kontaktinformationen und Änderungsprotokoll



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



Adresse des australischen Sponsors:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vinciiaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Die E-Mail-Adresse und Telefonnummer des länderspezifischen technischen Kundendienstes und des Kundendienstes finden Sie auf www.hologic.com/support.

Dieses Produkt ist nur zur Verwendung im Bereich der In-vitro-Diagnostik beim Menschen bestimmt.

Bei einem schwerwiegenden Zwischenfall den Hersteller und die zuständige Behörde in Ihrer Region benachrichtigen.

Hologic, Aptima, Cleavase, Invader, Invader Plus, Panther, Panther Fusion und assoziierte Logos sind Marken und/oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern.

ESwab ist eine Marke von Copan Diagnostics, Inc.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, gehören dem jeweiligen Eigentümer.

Dieses Produkt kann unter einem oder mehreren US-Patent(en) geschützt sein, zu finden unter www.hologic.com/patents.

© 2017-2022 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

AW-22789-801 Rev. 001
2022-06

Änderungsprotokoll	Datum	Beschreibung
AW-22789-001-Rev. 001	Juni 2022	<ul style="list-style-type: none"> • Panther Fusion MRSA Assay IFU basierend auf AW-18028-001 Rev. erstellt. 003 zur Einhaltung gesetzlicher Bestimmungen für IVDR. • Zusammenfassung und Testerklärung, Klinische Leistungsdaten, analytische Reaktivität (Inklusivität) und Verschleppung/Kreuzkontamination und den Abschnitt zu erforderlichen und nicht im Lieferumfang enthaltenen Materialien aktualisiert. • Kontaktinformationen einschließlich der folgenden aktualisiert: Bevollmächtigter für die Europäische Gemeinschaft, CE-Zeichen, Details zum australischen Sponsor und Informationen zum technischen Kundendienst. • Verschiedene Aktualisierungen von Stil und Formatierung.