

MRSA Assay (Panther Fusion™ System)

Instrucciones de uso
 Para uso diagnóstico *in vitro*
 Para exportación de EE. UU. solamente

ÍNDICE

Información general 2

Uso previsto 2

Resumen y explicación de la prueba 2

Resumen de seguridad y rendimiento 3

Principios del procedimiento 3

Advertencias y precauciones 4

Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos 7

Recogida y almacenamiento de muestras 8

Panther Fusion System 9

Reactivos y materiales suministrados 9

Material necesario que debe adquirirse por separado 10

Procedimiento de prueba del Panther Fusion System 11

Notas de procedimiento 12

Control de calidad 13

Controles negativo y positivo 13

Control interno 13

Interpretación de resultados 14

Limitaciones 15

Rendimiento del Panther Fusion MRSA Assay 16

Reproducibilidad del ensayo 16

Rendimiento clínico 17

Sensibilidad analítica 19

Reactividad analítica (inclusión) 19

Especificidad analítica 19

Interferencia competitiva 21

Interferencia 21

Traspaso/contaminación cruzada 22

Precisión del ensayo 22

Bibliografía 24

Información de contacto e historial de revisiones 25

Información general

Uso previsto

El Panther Fusion™ MRSA Assay es una prueba de diagnóstico *in vitro* que utiliza la química Invader Plus™ para la detección y diferenciación cualitativa del DNA del *Staphylococcus aureus* (SA) y del *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) de muestras de torunda nasal. Este ensayo está previsto para su uso en el Panther Fusion System como ayuda en la prevención y el control de infecciones por MRSA/SA en entornos sanitarios.

Resumen y explicación de la prueba

El *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) se considera parte normal de la flora humana y puede colonizar la parte anterior de las fosas nasales, la garganta, el perineo, la ingle y la piel.¹ La mayor parte de los portadores permanecen asintomáticos y las bacterias de colonización no causan enfermedad. Sin embargo, en los entornos sanitarios, las infecciones por *S. aureus* pueden ser graves o letales. Los síntomas de la infección invasiva por *S. aureus* abarcan desde infecciones cutáneas leves (forúnculos y abscesos) hasta bacteriemia, sepsis, endocarditis, osteomielitis y neumonía.¹

El uso extendido de la meticilina antibiótica betalactámica, un derivado de la penicilina, da lugar a la aparición de cepas de *S. aureus* resistentes a los antibióticos denominados *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA). La resistencia a los antibióticos en MRSA es conferida en gran medida por la expresión del gen *mecA*, que es transportado por el elemento genético móvil conocido como casete cromosómico estafilocócico *mec* (SCC*mec*). El gen *mecA* codifica la proteína 2a de unión de penicilina (PBP2a), una encima implicada en la síntesis de la pared celular resistente a la inhibición por parte de antibióticos betalactámicos.¹ Un gen de mecanismo de resistencia alternativo y homólogo, *mecC*, se describió en algunas cepas de *S. aureus* en 2011.^{2,3} El ensayo Panther Fusion MRSA detecta la presencia de *mecA* o *mecC*, así como el lugar de inserción de SCC*mec* en un marco de lectura abierto conservado (*orfX*) en el genoma de *S. aureus*, también conocido como unión *orfX*/SCC*mec*.

Las escisiones genéticas dentro del elemento SCC*mec* pueden conducir a la falta de un gen *mecA* funcional, lo que resulta en una denominada "variante de casete vacío" transportada por ciertas cepas de *S. aureus* sensibles a la meticilina (MSSA) que contienen la secuencia diana *orfX*/SCC*mec* pero son negativas para las señales *mecA*/*mecC*. Las especies de estafilococos coagulasa negativos (CoNS), como *Staphylococcus epidermidis*, que comúnmente colonizan la piel, también pueden transportar el gen *mecA*⁴ pero no llevan la secuencia diana de la unión *orfX*/SCC*mec* específica de *S. aureus*. Por lo tanto, para evitar resultados falsos positivos de variantes de "casete vacío" o muestras que contienen especies mixtas de estafilococos⁵, el ensayo Panther Fusion MRSA detecta simultáneamente la presencia de dianas de la unión *mecA*/*mecC* y *orfX*/SCC*mec* para identificar MRSA. El ensayo Panther Fusion MRSA también detecta una variante de GAPDH específica de *S. aureus* y, por lo tanto, puede diferenciar SA sensible a los fármacos de las cepas resistentes a los fármacos.

El MRSA se considera una causa significativa de las infecciones asociadas al entorno sanitario (HAI) en la UE.⁶ Como resultado de su naturaleza altamente invasiva y de su susceptibilidad limitada al tratamiento, el MRSA representa una carga clínica inmensa con alta mortalidad y morbilidad.⁷ Debido a la alta prevalencia entre los pacientes hospitalizados, es necesaria una identificación precisa y rápida del MRSA para iniciar una terapia antimicrobiana efectiva y ralentizar la propagación de las infecciones por MRSA.⁸ Se han introducido métodos moleculares de detección del MRSA como una alternativa más rápida a los métodos de cultivo lentos tradicionales.

Resumen de seguridad y rendimiento

El resumen de seguridad y rendimiento (SSP, por sus siglas en inglés) está disponible en la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado a los identificadores de dispositivos (UDI-DI básico). Para localizar el SSP del ensayo Panther Fusion MRSA, consulte el identificador único del producto básico (BUDI): 54200455DIAGPFMRSADE.

Principios del procedimiento

El Panther Fusion System automatiza por completo el procesamiento de muestras (lisis celular, captura, amplificación y detección de ácido nucleico), para el Panther Fusion MRSA Assay. Se agrega automáticamente un control interno (IC-X) a cada muestra a través del reactivo X de captura Fusion de trabajo (wFCR-X) para buscar interferencias durante el procesamiento, la amplificación y la detección de muestras que puedan resultar del fallo del reactivo o de las sustancias inhibitorias.

Nota: El Panther Fusion System agrega el IC-X al FCR-X. Tras agregar el IC-X al FCR-X, se lo denomina wFCR-X.

Captura de ácido nucleico y procesamiento de muestras: las muestras se incuban primero en un reactivo alcalino (Panther Fusion Enhancer Reagent-X; FER-X) para realizar la lisis de las células. El ácido nucleico liberado durante el paso de lisis se une a las partículas magnéticas del FCR-X mediante hibridación. Las partículas de captura se separan de la matriz de muestra residual en un campo magnético mediante una serie de pasos de lavado con detergente suave. El ácido nucleico capturado se eluye entonces de las partículas magnéticas mediante un reactivo de baja fuerza iónica (tampón de elución Panther Fusion).

Amplificación de la RCP múltiple y detección con Invader™: la mezcla maestra de reacción de dosis de una sola unidad liofilizada se reconstituye con el tampón de reconstitución Panther Fusion II y se combina con el ácido nucleico de elución en un tubo de reacción. Se añade reactivo de aceite Panther Fusion para evitar la evaporación durante la reacción Invader Plus.

Una reacción Invader Plus es una combinación de la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) y la química Invader. Amplificación de diana basada en la RCP con cebadores directo y reverso específicos de la diana. La generación de señal y detección de la diana se consigue a través de la química Invader. Durante la fase de detección, una sonda primaria sin etiquetar y un oligonucleótido de invasión se unen al DNA diana mediante hibridación, formando un DNA ternario complejo, reconocido y dividido por una enzima Cleavase™. Esta reacción de división libera un producto de división específico de la diana de la sonda primaria. Luego, el producto de división específico de la diana se une mediante hibridación a un casete de transferencia de energía de resonancia fluorescente (FRET) correspondiente, dando lugar a una reacción de división. Cada vez que se divide un casete de FRET, se separan el extintor y el fluoróforo correspondientes, generando un aumento de la señal de fluorescencia detectable.⁹ El ensayo emplea sondas primarias específicas de la diana y casetes de FRET vinculados con fluoróforos diferentes espectralmente para la unión *orfX/SCCmec*, *mecA/C*, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) y las dianas de control interno. El ensayo selecciona una isoforma de GAPDH específica para *S. aureus*. El software de Panther Fusion MRSA Assay computa un resultado de umbral de ciclo (Ct) a partir de la señal fluorescente acumulada en cada canal fluorescente para determinar cualitativamente la presencia de cada diana.

La siguiente tabla indica las dianas y los canales fluorescentes correspondientes empleados en el Panther Fusion MRSA Assay:

Diana	Canal
Unión <i>orfX</i> /SCC <i>mec</i>	FAM
Gen <i>mecA/C</i>	HEX
Gen GAPDH	ROX
Control interno	RED677

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.
- C. Lea atentamente todo el prospecto y el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Información para los laboratorios

- D. El Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) es corrosivo, nocivo si se ingiere y provoca quemaduras graves en la piel y daños en los ojos.
- E. Estos procedimientos solamente deben ser realizados por personal formado adecuadamente en el uso de este ensayo y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún vertido, desinfecte inmediatamente siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- F. Las muestras pueden ser infecciosas. Adopte las precauciones universales al realizar este ensayo. El director del laboratorio debe establecer métodos de manipulación y eliminación adecuados. Solo se debe permitir la realización de este procedimiento de diagnóstico al personal con la formación necesaria en manipulación de materiales infecciosos.¹⁰
- G. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- H. Utilice guantes desechables sin talco, protección para los ojos y batas de laboratorio al manipular las muestras y los reactivos. Lávese las manos cuidadosamente después de manipular las muestras y los reactivos.
- I. Deseche todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos, según las normas regionales, nacionales e internacionales vigentes.

Información para las muestras

- J. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar la integridad de las mismas. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- K. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de bacterias u otros microorganismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos


con otros, y deseche los materiales usados sin hacerlos pasar por los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con las muestras.






- L. No utilice el kit de recogida ESwab si presenta daños y no lo utilice después de la fecha de caducidad.

Información sobre los ensayos

- M. No utilice los reactivos ni los controles después de la fecha de caducidad.
- N. Guarde los componentes del ensayo bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas. Consulte *Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos y Procedimiento de prueba del Panther Fusion System* para obtener más información.
- O. No derrame los reactivos ni los fluidos del ensayo. No rellene los reactivos ni los fluidos; el Panther Fusion System verifica los niveles de reactivo.
- P. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- Q. Las muestras de control de calidad deben analizarse en conformidad con las normativas locales, regionales o nacionales o con los requisitos de acreditación, además de con los procedimientos estándar de control de calidad de su laboratorio.
- R. No utilice el cartucho de ensayo si la bolsa de almacenamiento ha perdido su sello o si la película del cartucho de ensayo no está intacta. En cualquiera de los dos casos, póngase en contacto con la asistencia técnica de Hologic.
- S. No utilice paquetes de fluidos que presenten daños o fugas. Si esto ocurre, póngase en contacto con la asistencia técnica de Hologic.
- T. Manipule los cartuchos de ensayo con cuidado. No deje caer ni invierta los cartuchos de ensayo. Evite la exposición prolongada a la luz ambiente.
- U. Algunos de los reactivos utilizados en el Panther Fusion MRSA Assay están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad.

Nota: La información de comunicación de riesgos refleja las clasificaciones de las hojas de datos de seguridad (SDS) de la UE y América del Norte. Para obtener la información sobre la comunicación de riesgos específica de su región, consulte la SDS concreta de su zona en la biblioteca de hojas de datos de seguridad en www.hologicds.com. Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en www.hologic.com/package-inserts.

Información de riesgos de la UE	
	<p>Panther Fusion Oil POLYDIMETHYLSILOXANE AL 100 %</p> <p>ATENCIÓN H315 - Provoca irritación cutánea H319 - Provoca irritación ocular grave</p>

	<p>Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE AL 5-10 %</i></p>
	<p>PELIGRO H302 - Nocivo en caso de ingestión H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves P260 - No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P280 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección P303 + P361 + P353 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando P310 - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico P280 - Llevar gafas/máscara de protección</p>
<p>Información sobre riesgos en EE. UU.</p>	
	<p>Aceite Panther Fusion <i>POLYDIMETHYLSILOXANE 95-100 %</i></p>
	<p>WARNING H315 - Causes skin irritation H319 - Causes serious eye irritation P264 - Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing P337 + P313 - If eye irritation persists: Get medical advice/attention P302 + P352 - IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water P332 + P313 - If skin irritation occurs: Get medical advice/attention P362 - Take off contaminated clothing and wash before reuse</p>
	<p>Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 5-10 %</i></p>
	<p>DANGER H302 - Harmful if swallowed H314 - Causes severe skin burns and eye damage P264 - Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling P270 - Do not eat, drink or smoke when using this product P260 - Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapors/spray P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician P303 + P361 + P353 - IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower P363 - Wash contaminated clothing before reuse P304 + P340 - IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician P301 + P312 - IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell P330 - Rinse mouth P301 + P330 + P331 - IF SWALLOWED: rinse mouth. Do NOT induce vomiting P405 - Store locked up Dispose of contents/container to an approved waste disposal plant</p>

Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos

A. La tabla siguiente indica los requisitos de almacenamiento y manipulación de este ensayo.

Reactivo	Almacenamiento del reactivo cerrado	Estabilidad Interna/una vez abierto ¹	Almacenamiento una vez abierto
Cartucho de Panther Fusion MRSA Assay	Entre 2 °C y 8 °C	60 días	Entre 2 °C y 8 °C ²
Reactivo de captura Panther Fusion X (FCR-X)	Entre 15 °C y 30 °C	30 días	Entre 15 °C y 30 °C
Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X)	Entre 15 °C y 30 °C	30 días	Entre 15 °C y 30 °C
Control interno Panther Fusion S (IC-X)	Entre 2 °C y 8 °C	(En wFCR-X)	No aplicable
Tampón de elución Panther Fusion	Entre 15 °C y 30 °C	60 días	Entre 15 °C y 30 °C
Aceite Panther Fusion	Entre 15 °C y 30 °C	60 días	Entre 15 °C y 30 °C
Tampón de reconstitución Panther Fusion II	Entre 15 °C y 30 °C	60 días	Entre 15 °C y 30 °C
Control positivo de MRSA Panther Fusion	Entre 2 °C y 8 °C	Vial de un solo uso	No aplicable-Un solo uso
Control negativo Panther Fusion II	Entre 2 °C y 8 °C	Vial de un solo uso	No aplicable-Un solo uso

Al retirar los reactivos del Panther Fusion System, se deben volver a guardar inmediatamente a sus temperaturas de almacenamiento adecuadas.

¹ La estabilidad en el instrumento comienza en el momento en que el reactivo se coloca en el Panther Fusion System para el cartucho de Panther Fusion MRSA Assay, FCR-X, FER-X e IC-X. La estabilidad en el instrumento comienza para el tampón de reconstitución Panther Fusion II, el tampón de elución Panther Fusion y el reactivo de aceite Panther Fusion cuando se utiliza por primera vez el paquete de reactivo.

² Si retira un cartucho de ensayo del Panther Fusion System, guárdelo en un recipiente hermético con desecante a la temperatura de almacenamiento recomendada.

B. Los reactivos wFCR-X y FER-X permanecen estables durante 60 días siempre que estén tapados y almacenados a una temperatura de entre 15 °C y 30 °C. No refrigerar.

C. Se debe desechar cualquier reactivo sin usar que supere su estabilidad de carga.

D. Los controles son estables hasta la fecha indicada en los viales.

E. Evite la contaminación cruzada durante el almacenamiento y la manipulación del reactivo.

F. **No congele los reactivos.**

Recogida y almacenamiento de muestras

Muestras: material clínico recogido del paciente y colocado en un sistema de transporte adecuado. En el caso del Panther Fusion MRSA Assay, es el sistema de transporte y recogida ESwab.

Muestras: representa un término más general que describe cualquier material que se analice en el Panther Fusion System (por ejemplo, muestras biológicas, controles y calibradores).

Nota: *Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes posiblemente infecciosos. Respete las precauciones universales.*

Nota: *Tenga cuidado para evitar la contaminación cruzada durante las fases de manipulación de muestras. Por ejemplo, deseche el material usado sin hacerlo pasar sobre tubos abiertos.*

A. Recogida de las muestras

Recoja una muestra nasal con ESwab de ambas fosas nasales respetando las prácticas estándar de su centro; o bien, utilice los siguientes puntos a modo de guía:

1. Lávese las manos y póngase guantes limpios.
2. Abra un paquete de torundas y extraiga una del envase.
3. Introduzca con cuidado la parte de nailon en una de las fosas nasales del paciente.
4. Presione con cuidado y gire la torunda por el interior de las fosas nasales de 3 a 5 veces.
5. Repita el proceso en la otra fosa nasal empleando la misma torunda.

Nota: *Para evitar la contaminación, tenga cuidado de no tocar el vástago de la torunda por debajo del punto de rotura.*

6. Abra el tubo que contiene 1 mL de Amies líquido, sitúe la torunda con la muestra en el tubo y rompa el vástago de la torunda por el punto de rotura.
7. Vuelva a cerrar la tapa del tubo y deseche la parte restante del vástago de la torunda.
8. Etiquete el tubo en caso necesario.
9. Quítense los guantes y lávese las manos.

Nota: *Si el Amies líquido se derrama antes de colocar la torunda en el tubo, coloque la torunda con la muestra en un nuevo tubo que contenga 1 mL de Amies líquido. Si se derrama líquido tras colocar la torunda en el tubo, recoja una nueva muestra nasal con otra torunda.*

B. Transporte y almacenamiento de las muestras antes de la prueba

Tras la recogida, puede transportar y almacenar la muestra en el tubo hasta 48 horas a una temperatura de entre 15 °C y 30 °C o hasta 5 días a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.

C. Almacenamiento de muestras después de la prueba

1. Coloque los tubos de muestras en posición vertical, en una gradilla para tubos.
2. Coloque un tapón nuevo sobre las muestras que ya se han analizado.
3. Si es preciso enviar las muestras analizadas, retire los tapones perforables y sustitúyalos por tapones nuevos no perforables. Conserve las condiciones de almacenamiento de las muestras durante el transporte según las indicaciones de la sección *Transporte y almacenamiento de las muestras antes de la prueba*.

Nota: *Las muestras deben enviarse de acuerdo con la normativa de transporte nacional, internacional y regional aplicable.*

Panther Fusion System

Reactivos y materiales suministrados

Paquete del ensayo

Componentes ¹	N.º de catálogo	Conservación
Cartuchos de Panther Fusion MRSA Assay, 96 pruebas Cartucho de Panther Fusion MRSA Assay, 12 pruebas, 8 por caja	PRD-04803	Entre 2 °C y 8 °C
Controles del Panther Fusion MRSA Assay Tubo de control positivo de MRSA Panther Fusion, 5 por caja Tubo de control negativo Panther Fusion II, 5 por caja	PRD-04805	Entre 2 °C y 8 °C
Control interno Panther Fusion X, 960 pruebas Tubo de control interno Panther Fusion X, 4 por caja	PRD-04476	Entre 2 °C y 8 °C
Reactivos de extracción Panther Fusion X, 960 pruebas Botella de reactivo X de captura Panther Fusion, 240 pruebas, 4 por caja Botella de Panther Fusion Enhancer Reagent-X, 240 pruebas, 4 por caja	PRD-04477	Entre 15 °C y 30 °C
Tampón de elución Panther Fusion, 2400 pruebas Paquete de tampón de elución Panther Fusion, 1200 pruebas, 2 por caja	PRD-04334	Entre 15 °C y 30 °C
Tampón de reconstitución Panther Fusion II, 1920 pruebas Tampón de reconstitución Panther Fusion II, 960 pruebas, 2 por caja	PRD-04804	Entre 15 °C y 30 °C
Reactivo de aceite Panther Fusion, 1920 pruebas Reactivo de aceite Panther Fusion, 960 pruebas, 2 por caja	PRD-04335	Entre 15 °C y 30 °C

¹ Los componentes también pueden solicitarse en los siguientes paquetes:

Kit de fluidos universales Panther Fusion, PRD-04430, contiene 1 tampón de aceite Panther Fusion y 1 tampón de elución Panther Fusion.

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: A menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su referencia.

Material	N.º de catálogo
Panther System	303095
Actualización del módulo Panther Fusion.	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Kit de fluidos del ensayo Aptima (Solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)	303014 (1000 pruebas)
Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)	104772-02
Juego de bolsas de desechos Panther	902731
Tapa del recipiente de desechos Panther	504405
O el kit de ciclo del Panther System para ensayos en tiempo real contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos y fluidos del ensayo	PRD-03455 (5000 pruebas)
O bien, el kit de ciclo del Panther System (cuando se procesan ensayos TMA en paralelo con ensayos Panther Fusion) contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos, auto detect* y fluidos del ensayo	303096 (5000 pruebas)
Bandejas de tubos Panther Fusion, 1008 pruebas, 18 bandejas por caja	PRD-04000
Puntas conductoras de 1000 µL, filtradas, detectoras de líquido y desechables. No todos los productos están disponibles en todas las zonas. Póngase en contacto con su representante para obtener información específica para su zona.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Sistema de transporte y recogida de torundas de elución Amies líquido Copan (ESwab™), o equivalente	480C o 480CE (Copan) 220245 (Becton Dickinson)
Sistema de transporte y recogida de torundas de elución Amies líquido BD™ (ESwab)	Dickinson
Tapones perforables Aptima	105668
Tapones de repuesto no perforables (opcionales)	103036A
Tapones de frascos de reactivo de extracción de repuesto	CL0040
Mezclador vórtex	—
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 al 8,25 % (0,7 M a 1,16 M)	—
Guantes desechables sin talco	—

*Solo necesario para ensayos TMA Panther Aptima.

Procedimiento de prueba del Panther Fusion System

Nota: Consulte el Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System para obtener más información relativa al procedimiento.

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 %-3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje la solución de hipoclorito de sodio en contacto con las superficies durante 1 minuto como mínimo y, a continuación, enjuague con agua desionizada (DI). No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa con una cubierta absorbente con forro de plástico para mesas de laboratorio limpia.

B. Preparación de reactivos

1. Retire las botellas de IC-X, FCR-X y FER-X de su almacenamiento.
2. Abra las botellas de IC-X, FCR-X y FER-X y descarte los tapones. Abra la puerta de TCR en el compartimento superior del Panther Fusion System.
3. Coloque los frascos de IC-X, FCR-X y FER-X en las posiciones adecuadas en el carrusel de TCR.
4. Cierre la puerta del TCR.

Nota: El Panther Fusion System añadirá IC-X a la botella de FCR-X. Una vez añadido IC-X en el FCR-X, pasa a denominarse wFCR-X. Si el wFCR-X y el FER-X se retiran del sistema, utilice tapones nuevos y almacene de inmediato según las condiciones adecuadas de almacenamiento.

C. Manipulación de muestras

1. Agite cada muestra durante 5 segundos con un mezclador vórtex. No invierta el tubo.
2. Retire el tapón del tubo y la torunda del tubo.
3. Descarte el tapón y la torunda del tubo siguiendo los procedimientos del laboratorio.
4. Coloque un tapón penetrable en el tubo.
5. Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla. Si un tubo de muestras contiene burbujas o tiene un volumen inferior al que se observa generalmente, golpee con suavidad la parte inferior del tubo para disolver las burbujas y transferir el contenido al fondo.

Nota: Para evitar un error de procesamiento, asegúrese de que el volumen de la muestra sea superior a 500 µl. Existe volumen suficiente para realizar 2 reacciones Panther Fusion a partir de una muestra recogida con el kit de recogida ESwab.

D. Preparación del sistema

Para obtener instrucciones sobre cómo configurar el Panther Fusion System, incluida la carga de muestras, reactivos, cartuchos de ensayo y fluidos universales, consulte el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Notas de procedimiento

A. Controles

1. El control positivo de MRSA Panther Fusion y el control negativo Panther Fusion II pueden cargarse en cualquier posición en la gradilla y en cualquier carril del compartimento de muestras del Panther Fusion System.
2. Una vez pipeteados y procesados los tubos de control para el ensayo Panther Fusion MRSA, permanecerán válidos un máximo de 30 días (frecuencia de control configurada por un administrador), a menos que los resultados de los controles no sean válidos o cargue un nuevo lote de cartuchos de ensayo.
3. El control positivo de MRSA Panther Fusion y el control negativo Panther Fusion II pueden parecer turbios o contener precipitado que no interferirá en los resultados del análisis. Dejar que los controles alcancen la temperatura ambiente antes del procesamiento permitirá la disolución del precipitado. **No agite los controles con mezclador vórtex.**
4. Cada tubo de control se puede analizar una vez.
5. El pipeteado de la muestra del paciente comienza cuando se cumple una de las dos siguientes condiciones:
 - a. Hay resultados válidos para controles registrados en el sistema.
 - b. El sistema está procesando actualmente un conjunto de controles.

Control de calidad

El software del Panther Fusion MRSA Assay puede invalidar un resultado de muestra o un ciclo si surgen problemas durante la ejecución del ensayo. Las muestras con resultados no válidos deben analizarse de nuevo.

Controles negativo y positivo

Para generar resultados válidos, debe analizarse un conjunto de controles del ensayo. Una réplica del control positivo de MRSA Panther Fusion y del control negativo Panther Fusion II debe analizarse cada vez que un nuevo lote de cartuchos de ensayo se cargue en el Panther Fusion System, o cuando el conjunto actual de controles válidos para un lote de cartuchos activo haya caducado.

El Panther Fusion System está configurado para que los controles de ensayo se ejecuten en un intervalo especificado por el administrador de hasta 30 días. El software del Panther Fusion System alerta al usuario cuando se precisan controles de ensayo, y no se iniciarán nuevos análisis hasta que se hayan cargado los controles de ensayo y haya comenzado su procesamiento.

Durante el procesamiento, el Panther Fusion System verifica automáticamente los criterios de aceptación de los controles de ensayo. Para generar resultados válidos, los controles de ensayo deben superar una serie de controles de comprobaciones de validez realizadas por el Panther Fusion System.

Si los controles de ensayo superan todas las comprobaciones de validez, se consideran válidos para el intervalo de tiempo especificado por el administrador. Cuando el intervalo de tiempo haya transcurrido, el Panther Fusion System invalida los controles de ensayo y exige que se analice un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de comenzar el procesamiento de nuevas muestras.

Si alguno de los controles de ensayo no supera las comprobaciones de validez, el Panther Fusion System invalida automáticamente las muestras afectadas y exige que se analice un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de comenzar el procesamiento de muestras nuevas.

Control interno

Se añade un control interno a cada muestra durante el procesamiento automatizado de especímenes en el Panther Fusion System. Durante el procesamiento, el software del Panther Fusion System verifica automáticamente los criterios de validación del control interno. La detección del control interno no es necesaria para las muestras que son positivas para cualquier diana de ensayo. El control interno debe detectarse en todas las muestras que son negativas para cualquier diana de ensayo. Las muestras que no cumplan con los criterios se marcarán como no válidas. Todas las muestras con un resultado no válido deberán volver a analizarse.

El Panther Fusion System se ha diseñado para verificar con precisión los procesos cuando los procedimientos se realizan según las instrucciones indicadas en este prospecto y en el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Interpretación de resultados

El software de Panther Fusion MRSA Assay determina automáticamente los resultados para muestras y controles. Los resultados para SA y MRSA se comunican por separado. Un resultado puede ser negativo para SA y negativo para MRSA, positivo para SA y negativo para MRSA, positivo para SA y positivo para MRSA o no válido. Las muestras con resultados no válidos deben analizarse de nuevo.

La Tabla 1 muestra los posibles resultados notificados con las interpretaciones de resultados correspondientes.

Tabla 1: Interpretación de la prueba

orfX/SCCmec (FAM)	mecA/C (HEX)	GAPDH (ROX)	Control interno (RED677)	Resultado	
				MRSA	SA
+	+	+	+/-	Positivo	Positivo
+	-	+	+/-	Negativo	Positivo
-	+	+	+/-	Negativo	Positivo
-	-	+	+/-	Negativo	Positivo
+	-	-	+/-	Negativo	Negativo
-	+	-	+/-	Negativo	Negativo
+	+	-	+/-	Negativo	Negativo
-	-	-	+	Negativo	Negativo
-	-	-	-	No válido	No válido

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de estas instrucciones puede producir resultados erróneos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras.
- C. Evite la contaminación siguiendo las prácticas adecuadas de laboratorio y los procedimientos especificados en este prospecto.
- D. El Panther Fusion MRSA Assay se ha validado para su uso con muestras de torunda nasales tomadas con el sistema de transporte y recogida de torundas de elución (ESwab) Amies Líquido Copan o con el sistema de transporte y recogida equivalente de torundas de elución (ESwab) Amies Líquido BD.
- E. Recoja las muestras de torunda nasal siguiendo los procedimientos del prospecto del sistema de transporte y recogida ESwab.
- F. Las nuevas cepas de MRSA o SA con mutaciones o polimorfismos en regiones de unión de sonda o de cebado podrían no detectarse mediante el Panther Fusion MRSA Assay. Las muestras positivas para dianas GAPDH y *mecA/mecC* pero negativas para la diana de la unión *orfX/SCCmec* pueden representar falsos negativos debido a tipos nuevos o inusuales de MRSA SCCmec/MREJ. Tales muestras pueden requerir una mayor discriminación a través de métodos de detección alternativos.
- G. El Panther Fusion MRSA Assay puede generar un resultado de MRSA de falso positivo al analizar una muestra de nasal de infección combinada que contenga estafilococos coagulasa-negativos resistentes a la meticilina y SA de casete vacío.
- H. El *S. argenteus*, una especie del género *Staphylococcus* coagulasa-positivo, estrechamente relacionada con el *S. aureus*, es poco común, pero puede arrojar falsos positivos en el ensayo Panther Fusion MRSA.

Rendimiento del Panther Fusion MRSA Assay

Reproducibilidad del ensayo

La reproducibilidad del Panther Fusion MRSA Assay se ha evaluado en tres centros empleando un panel de reproducibilidad de 5 muestras. Las pruebas se realizaron empleando un lote de reactivos de ensayo y seis usuarios (dos en cada ubicación). En cada ubicación, las pruebas se realizaron dos veces al día (un ciclo por usuario), durante 5 días como mínimo. Cada ciclo tuvo tres réplicas de cada muestra del panel.

Las muestras del panel se describen en la Tabla 2, junto con un resumen de la concordancia con los resultados previstos para cada una de las muestras del panel. La Tabla 3 presenta el análisis de la media y variabilidad entre ubicaciones, entre usuarios, entre días, entre ciclos y dentro de los ciclos y en general (total) para valores de Ct.

Tabla 2: Porcentaje de concordancia con el resultado previsto

Muestra del panel		% de concordancia			
Descripción	Concentración	Ubicación 1	Ubicación 2	Ubicación 3	Concordancia total
Positivo moderado de MRSA	MRSA a LDD 2-3X	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Positivo bajo de MRSA	MRSA a LDD 1-2X	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Positivo moderado de SA	SA a LDD 2-3X	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Positivo bajo de SA	SA a LDD 1-2X	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Negativo	SNM sin pico	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)

LDD = límite de detección, SNM = matriz nasal simulada.

Tabla 3: Variabilidad del valor Ct

Muestra del panel		Diana	n POS	Ct media	Entre ubicaciones		Entre usuarios		Entre días		Entre ciclos		Dentro de ciclos		Total	
Descripción	Concentración				DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV
Positivo moderado de MRSA	MRSA a LDD 2-3X	<i>orfX1/SCCmec</i>	90	34,0	0,3	0,8	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,5	1,4	0,6	1,7
		<i>mec A/C</i>	90	35,1	0,3	0,9	0,0	0,0	0,2	0,6	0,1	0,4	0,4	1,2	0,6	1,7
		GAPDH	90	33,2	0,3	0,9	0,1	0,3	0,1	0,4	0,1	0,4	0,4	1,3	0,6	1,7
Positivo bajo de MRSA	MRSA a LDD 1-2X	<i>orfX1/SCCmec</i>	90	35,2	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	1,8	0,7	1,9
		<i>mec A/C</i>	90	36,2	0,3	0,7	0,0	0,0	0,1	0,3	0,1	0,3	0,5	1,4	0,6	1,6
		GAPDH	90	34,2	0,3	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,4	1,3	0,6	1,6
Positivo moderado de SA	SA a LDD 2-3X	GAPDH	90	32,9	0,4	1,2	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,4	1,1	0,6	1,7
Positivo bajo de SA	SA a LDD 1-2X	GAPDH	90	33,9	0,4	1,2	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,7	0,4	1,2	0,6	1,9
Negativo	Solo SNM (sin pico)	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 = umbral de ciclo, CV = coeficiente de variación, LDD = límite de detección, POS= positivo, SD = desviación estándar, SNM = matriz nasal simulada.

Rendimiento clínico

El rendimiento clínico se ha evaluado comparando los resultados obtenidos con el Panther Fusion MRSA Assay con los del ensayo de referencia de una prueba de ácido nucleico (NAT) IVD.

Las muestras de torundas nasales se recogieron en un hospital norteamericano con el sistema de transporte Amies líquido ESwab Copan. Se ha analizado una alícuota de la muestra en un ensayo de referencia NAT IVD A continuación, la muestra sobrante se congeló, se envió a Hologic y se analizó con el Panther Fusion MRSA Assay.

Se analizaron un total de 805 muestras para SA y MRSA con el Panther Fusion MRSA Assay y con el ensayo de referencia.

En comparación con el método de referencia, la sensibilidad y especificidad del Panther Fusion MRSA Assay fueron del 95,6 % y del 96,8 %, respectivamente, para la detección del MRSA (Tabla 4) y del 95,9 % y el 95,7 %, respectivamente, para la detección del SA (Tabla 5).

Además, al menos un estudio con evaluadores externos de publicaciones científicas ha evaluado el rendimiento clínico del ensayo Panther Fusion MRSA utilizando 434 muestras nasales de Eswab recogidas de un hospital en Lyon, Francia. La concordancia general entre los métodos de cultivo primario y las pruebas Panther Fusion MRSA fue del 88 % (n=382/434) antes del análisis de discrepancia. Tras un análisis adicional de las muestras discrepantes con cultivo enriquecido y una prueba de ácido nucleico clínicamente validada, la concordancia de Panther Fusion con un resultado de consenso determinado mediante métodos de referencia molecular y cultivo fue del 97,5 % para la detección de AS (n=423/434; $\kappa = 0,943$; IC del 95 % = 90,9 %; 97,6 %) y 97,9 % para la detección de SARM (n=425/434; $\kappa = 0,841$; IC del 95 % = 73,9 %; 94,4 %). Los investigadores del estudio concluyeron que dada la excelente concordancia con los métodos de referencia, el ensayo Panther Fusion MRSA es una herramienta fiable para la detección rápida de MRSA.¹¹

Tabla 4: Rendimiento del Panther Fusion MRSA Assay en comparación con el ensayo de referencia para la detección del MRSA

MRSA	Ensayo de referencia		Total	
	POS	NEG		
Panther Fusion MRSA Assay	POS	109	22 ¹	131
	NEG	5 ¹	669	674
Total		114	691	805
Sensibilidad	95,6 % (109/114) (IC del 95 %: 90,1 % al 98,1 %)			
Especificidad	96,8 % (669/691) (IC del 95 %: 95,2 % al 97,9 %)			
VPP	83,2 % (109/131) (IC del 95 %: 75,9 % al 88,6 %)			
VPN	99,3 % (669/674) (IC del 95 %: 98,3 % al 99,7 %)			
Porcentaje de concordancia	96,6 % (778/805) (IC del 95 %: 95,2 % al 97,7 %)			

NEG = negativo, VPN = valor de predicción negativo, POS = positivo, VPP = valor de predicción positivo.

¹ Las muestras que generaron resultados de la prueba de MRSA discordantes entre el Panther Fusion MRSA Assay y el ensayo de referencia se evaluaron adicionalmente empleando un método de cultivo de enriquecimiento.

De las 22 muestras con resultados falsos positivos para MRSA con el Panther Fusion MRSA Assay, se observó que 12 presentaron resultados positivos para MRSA tras la resolución discordante de cultivo enriquecido.

De las 5 muestras con resultados falsos negativos para MRSA con el Panther Fusion MRSA Assay, se observó que 4 presentaron resultados negativos para MRSA tras la resolución discordante de cultivo enriquecido.

Tabla 5: Rendimiento del Panther Fusion MRSA Assay en comparación con el ensayo de referencia para la detección del SA

SA	Ensayo de referencia		Total	
	POS	NEG		
Panther Fusion MRSA Assay	POS	234	24 ¹	258
	NEG	10 ¹	537	547
Total		244	561	805
Sensibilidad	95,9 % (234/244) (IC del 95 %: 92,6 % al 97,8 %)			
Especificidad	95,7 % (537/561) (IC del 95 %: 93,7 % al 97,1 %)			
VPP	90,7 % (234/258) (IC del 95 %: 86,5 % al 93,7 %)			
VPN	98,2 % (537/547) (IC del 95 %: 96,7 % al 99,0 %)			
Porcentaje de concordancia	95,8 % (771/805) (IC del 95 %: 94,2 % al 97,0 %)			

NEG = negativo, VPN = valor de predicción negativo, POS = positivo, VPP = valor de predicción positivo.

¹ Las muestras que generaron resultados de la prueba de SA discordantes entre el Panther Fusion MRSA Assay y el ensayo de referencia se evaluaron adicionalmente empleando un método de cultivo de enriquecimiento.

De las 24 muestras con resultados falsos positivos para SA con el Panther Fusion MRSA Assay, se observó que 11 presentaron resultados positivos para SA tras la resolución discordante de cultivo enriquecido.

De las 10 muestras con resultados falsos negativos para SA con el Panther Fusion MRSA Assay, se observó que 7 presentaron resultados negativos para SA tras la resolución discordante de cultivo enriquecido.

Sensibilidad analítica

El 95 % de los intervalos de confianza para el límite de detección (LDD) de MRSA y SA con el Panther Fusion MRSA Assay se determinaron analizando matrices nasales simuladas (SNM) con pico en múltiples concentraciones con dos cepas de MRSA y una cepa de SA. Se analizaron 21 réplicas con tres lotes de reactivos en cada concentración, obteniéndose un total de 63 réplicas. Las concentraciones de LDD específicas de las dianas se determinaron mediante análisis Probit y se verificaron analizando ≥ 20 réplicas adicionales con un lote de reactivo. El UFC/mL obtenido que representa el valor LDD para cada cepa se confirmó mediante recuento en placa (Tabla 6).

Tabla 6: Sensibilidad analítica

Cepa	Origen (ID)	Tipo SCCmec	Límite de detección (UFC/mL)
<i>S. aureus</i> (SA), Seattle 1945	ATCC (25923)	N/C	1833
<i>S. aureus</i> resistente a la meticilina (MRSA), NYBK2464	ATCC (BAA-41)	II	2383
<i>S. aureus</i> resistente a la meticilina (MRSA), HPV107	ATCC (BAA-44)	I	1183

Reactividad analítica (inclusión)

Se utilizó una colección de cepas de MRSA y SA previamente caracterizadas y geográficamente diversas para evaluar la reactividad analítica del ensayo Panther Fusion MRSA. Se analizaron un total de 106 cepas de MRSA y 22 cepas de SA en SNM próxima al LDD del ensayo.

Las cepas de MRSA analizadas con el ensayo Panther Fusion MRSA se recogieron de diversas ubicaciones geográficas en 27 países diferentes y representaron varios tipos y subtipos de SCCmec (I, II, III, IV, IVa-e, IVg-h, V, VI, VII, VIII, IX y XI) y varios tipos de MREJ (i, ii, iii, iv, xii, xv, xviii, y xxi). El clon Bengal Bay (ST772) también se encontraba entre las cepas de MRSA analizadas. Las concentraciones inhibitorias mínimas de oxacilina de las cepas de MRSA analizadas variaron de bajas a altas (de 0,5 a más de 256 $\mu\text{g/mL}$). Algunas cepas de MRSA y SA también se caracterizaron previamente mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y se analizaron diversos tipos de PFGE (USA100-1200, incluidos USA300-0114, CC130, WA-MRSA e Iberian). Las cepas de SA analizadas incluyeron 9 cepas variantes de casete vacío y 8 cepas de *S. aureus* resistentes a la oxacilina (BORSA).

Todas las cepas analizadas se identificaron correctamente como MRSA o SA mediante el ensayo Panther Fusion MRSA, lo que demuestra que el ensayo Panther Fusion MRSA identificó correctamente diversas cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina como positivas para SARM y *S. aureus* sensibles a la meticilina como positivas para SA y negativas para SARM.

Especificidad analítica

La especificidad analítica del Panther Fusion MRSA Assay se evaluó mediante 95 pruebas de microorganismos no diana presentes habitualmente en la nariz (Tabla 7). Se analizaron bacterias (77 cepas) y levadura (2 cepas) en concentraciones de 10^6 UFC/mL o UFI/mL o copias/mL. Se analizaron virus (16 cepas) en concentraciones de 10^5 UFP/mL. Cada microorganismo se añadió a la SNM y se analizó en presencia y ausencia de MRSA o SA a LDD 3X. No se observó ninguna reactividad cruzada. No se observó ninguna interferencia en la eficacia del ensayo en presencia del microorganismo.

Tabla 7: Microorganismos que se encuentran habitualmente en muestras nasales y se analizaron en cuanto a reactividad cruzada

Virus		
Adenovirus tipo 1	Virus del sarampión	Gripe A H1N1
Adenovirus tipo 7A	Virus de las paperas	Virus de la parainfluenza tipo 1
Citomegalovirus	Virus de la parainfluenza tipo 3	Virus de la parainfluenza tipo 2
Enterovirus tipo 68	Virus respiratorio sincitial tipo B	Rinovirus tipo 1A
Metaneumovirus humano (hMPV) 18 tipo B2	Cepa de coronavirus 229E	
Gripe B	Virus de Epstein-Barr	
Bacterias y hongos		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Estafilococo equorum</i>
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	<i>Legionella wadsworthii</i>	<i>Staphylococcus felis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus gallinarum</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis avirulent</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus kloosii</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	<i>Staphylococcus lentus</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
<i>Corynebacterium aquaticus</i> (<i>Leifsonia aquatica</i>)	<i>Pasteurella aerogenes</i>	<i>Staphylococcus pulvereri</i>
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Corynebacterium flavescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i> (<i>Salmonella enterica</i> subesp. <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> subesp. <i>Urealyticum</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Staphylococcus delphini</i>	
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	

Interferencia competitiva

Se evaluaron infecciones combinadas por de MRSA con SA, MRSA con *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) y SA con MRSE con el Panther Fusion MRSA Assay al analizar la diana de ensayo (MRSA o SA) cerca del límite de detección en presencia de un organismo microbiano competitivo en alta concentración. Los resultados mostrados en la Tabla 8 indican que la sensibilidad de la detección de MRSA y SA no se vio afectada por las infecciones combinadas bajo las condiciones analizadas.

Tabla 8: Interferencia competitiva

Microorganismo competitivo		Diana		Resultado del Panther Fusion MRSA Assay	
Descripción	Concentración	Descripción	Concentración	MRSA	SA
SA	1,8 x 10 ⁷ UFC/mL	MRSA	LDD 3X	+	+
MRSE	1,8 x 10 ⁷ UFC/mL	MRSA	LDD 3X	+	+
MRSE	2,7 x 10 ⁷ UFC/mL	SA	LDD 3X	-	+

UFC = unidad de formación de colonias, LDD = límite de detección.

Interferencia

Mediante el Panther Fusion MRSA Assay, se evaluaron sustancias potencialmente interferentes que pueden estar presentes en las muestras. Se analizaron concentraciones clínicamente relevantes de múltiples sustancias endógenas y exógenas (Tabla 9) en ausencia y presencia de MRSA y SA, respectivamente, cerca del LDD. Ninguna de las sustancias en las concentraciones analizadas afectó el rendimiento del Panther Fusion MRSA Assay.

Tabla 9: Sustancias potencialmente interferentes

Tipo	Sustancia	Ingredientes activos	Concentración
Endógena	Sangre	100 % sangre humana	5 % v/v
	Mucina	Mucina bovina de glándula submaxilar	0,5 % m/v
Fármacos sin receta	Afrin	Clorhidrato de oximetazolina al 0,05 %	15 % v/v
	Pulverizador nasal Dristan	Clorhidrato de oximetazolina al 0,05 %	15 % v/v
	Otrivin	Clorhidrato de xilometazolina 0,1 %	15 % v/v
	Espray nasal salino	Cloruro de sodio al 0,65 % (0,65 %)	15 % v/v
	Neo-Synephrine	Clorhidrato de fenilefrina al 1,0 %	15 % v/v
	Pastillas para la garganta Chloroseptic	Benzocaína al 0,4 % (15 mg por pastilla) y metanol al 0,3 % (10 mg por pastilla)	15 % m/v
	Gel nasal Zicam	Clorhidrato de oximetazolina al 0,05 %	15 % m/v
	Flonase	Propionato de fluticasona al 0,05 %	15 % v/v
	Espray nasal NasalCrom	Cromolino sódico	15 % v/v

Tabla 9: Sustancias potencialmente interferentes (continuación)

Tipo	Sustancia	Ingredientes activos	Concentración
Fármacos con receta	Taro-Mupirocin, Mupirocin Ointment USP, 2 %	Mupirocina	0,5 mg/mL
	Relenza	Zanamivir 5 mg	2,0 mg/mL
	Tobramicina	Tobramicina	4,5 mg/mL
	Solución nasal Flunisolide USP, 0,025 %	Flunisolide	0,12 mg/mL
	Beconase AQ	Beclometasona	0,4 mg/mL

v/v = volumen/volumen, m/v = masa/volumen.

Traspaso/contaminación cruzada

Se evaluó el traspaso/la contaminación cruzada en nueve ciclos separados en tres instrumentos. Cada ciclo incluyó muestras negativas intercaladas (SNM) y muestras positivas altas (SNM que contenían 5×10^7 UFC/mL de MRSA). El índice de traspaso fue del 0,0 %.

Precisión del ensayo

Se evaluó la precisión del Panther Fusion MRSA Assay con muestras diseñadas en y cerca del LDD por tres usuarios en dos ciclos separados al día, empleando tres lotes de reactivo en tres instrumentos Panther Fusion durante 35 días.

La Tabla 10 muestra el índice de positividad (%) y el porcentaje de concordancia (IC del 95 %). La Tabla 11 presenta el análisis de la media y variabilidad de los valores de Ct entre instrumentos, entre usuarios, entre lotes, entre días, entre ciclos y dentro de los ciclos y Ct general.

Tabla 10: Porcentaje de concordancia con el resultado previsto

Diana	Muestra del panel		% positivo por tipo de diana (Positivo n/n válido)	% de concordancia (IC de 95 %)
	Descripción	Concentración (en SNM)		
MRSA	Positivo moderado de MRSA	MRSA a LDD 2-3X	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7-100 %)
	Positivo bajo de MRSA	MRSA a LDD 1-2X	99,4 % (159/160)	99,4 % (96,5-99,9 %)
SA	Positivo moderado de SA	SA a LDD 2-3X	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7-100 %)
	Positivo bajo de SA	SA a LDD 1-2X	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7-100 %)
Negativo	Negativo	Solo SNM (sin pico)	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7-100 %)

IC = intervalo de confianza, LDD = límite de detección, SNM = matriz nasal simulada.

Tabla 11: Variabilidad del valor Ct

Muestra del panel	Diana	n POS	Ct media	Entre instrumentos		Entre usuarios		Entre lotes		Entre días		Entre ciclos		Dentro de ciclos		Total	
				DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV
Positivo moderado de MRSA	<i>orfX/SCCmec</i>	160	33,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,2	0,5	0,2	0,6	0,4	1,1	0,5	1,5
	<i>mec A/C</i>	160	35,2	0,1	0,3	0,1	0,3	0,3	1,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,4	1,0	0,6	1,7
	GAPDH	160	33,4	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3	0,8	0,1	0,4	0,2	0,5	0,3	0,9	0,5	1,5
Positivo bajo de MRSA	<i>orfX/SCCmec</i>	160	35,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,2	0,5	0,1	0,3	0,0	0,0	0,6	1,8	0,7	1,9
	<i>mec A/C</i>	160	36,5	0,1	0,3	0,1	0,4	0,3	0,9	0,2	0,5	0,0	0,0	0,6	1,7	0,7	2,0
	GAPDH	159	34,6	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3	0,8	0,1	0,4	0,0	0,0	0,5	1,5	0,6	1,9
Positivo moderado de SA	GAPDH	160	33,3	0,2	0,5	0,0	0,0	0,3	0,8	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,6
Positivo bajo de SA	GAPDH	162	34,3	0,2	0,6	0,2	0,5	0,2	0,4	0,0	0,0	0,2	0,7	0,4	1,2	0,6	1,6
Negativo	IC	162	35,4	0,6	1,8	0,0	0,0	0,4	1,1	0,3	0,7	0,3	0,8	0,6	1,6	1,0	2,9

Ct = umbral de ciclo, CV = coeficiente de variación, POS = positivo, DE = desviación estándar.

Bibliografía

1. Murray, P., Rosenthal, K., Kobayashi, G., and Pfaller, M. 2002. Medical Microbiology (4° ed.), pp. 207-216. Mosby, St. Louis, MO.
2. García-Álvarez, L., Holden, M.T.G., Lindsay, H., Webb, C.R., Brown, D.F.J., Curran, M.D., Walpole, E., Brooks, K., Pickard, D.J., Teale, C., Parkhill, J., Bentley, S.D., Edwards, G.F., Girvan, E.K., Kearns, A.M., Pichon, B., Hill, R.L., Larsen, A.R., Skov, R.L., Peacock, S.J., Maskell, D.J., and Holmes, M.A. 2011. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 11(8): 595–603. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70126-8.
3. Shore, A.C., Deasy, E.C., Slickers, P., Brennan, G., O'Connell, B., Monecke, S., Ehricht, R., and Coleman, D.C. 2011. Detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 55(8): 3765-3773. doi: 0.1128/AAC.00187-11.
4. Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. 2014. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*, 27(4), 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>.
5. Huletsky, A., Giroux, R., Rossbach, V., Gagnon, M., Vaillancourt, M., Bernier, M., Gagnon, F., Truchon, K., Bastien, M., Picard, F. J., van Belkum, A., Ouellette, M., Roy, P. H., y Bergeron, M. G. 2004. Nuevo ensayo de PCR en tiempo real para la detección rápida de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina directamente a partir de muestras que contienen una mezcla de estafilococos. *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. Disponible en línea: <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. Document M29: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Sitio web de CLSI, <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Consultado en septiembre de 2017.
11. Maurin, E., Ranc, A. G., Abad, L., Bes, M., Gustave, C. A., Vandenesch, F., Dupieux-Chabert, C., Tristan, A., y Laurent, F. 2020. Rendimiento del ensayo Hologic Panther Fusion® MRSA para la detección nasal de portadores de *Staphylococcus aureus* sensible y resistente a la metilicina. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 39(11), 2169–2176. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03968-8>.

Información de contacto e historial de revisiones



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



Dirección del patrocinador australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Para obtener las direcciones de correo y los teléfonos del soporte técnico y la atención al cliente específicos de cada país, www.hologic.com/support.

Este producto está diseñado para usarse únicamente en el campo del diagnóstico in vitro en humanos.

En caso de incidente grave, notifíquelo al fabricante y a la autoridad competente de su región.

Hologic, Aptima, Cleavase, Invader, Invader Plus, Panther y Panther Fusion y sus logotipos asociados son marcas comerciales y/o registradas de Hologic, Inc. y/o sus filiales en Estados Unidos y/o en otros países.

ESwab es una marca comercial de Copan Diagnostics, Inc.

Todas las demás marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios

Este producto puede estar cubierto por una o más patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

©2017-2022 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-22789-301 Rev. 001
2022-06

Historial de revisiones	Fecha	Descripción
AW-22789-001-Rev. 001	Junio de 2022	<ul style="list-style-type: none"> Se han creado las instrucciones de uso del ensayo Panther Fusion MRSA de acuerdo con AW-18028-001 Rev. 003 para el cumplimiento normativo con IVDR. Resumen y explicación actualizados de la prueba, el rendimiento clínico, la reactividad analítica (inclusividad) y la información del estudio de arrastre/contaminación cruzada, y la sección Materiales necesarios y disponibles por separado. Actualización de la información de contacto, incluida la siguiente: información sobre el representante de la Unión Europea, el marcado CE, el representante de Australia y la asistencia técnica. Varias actualizaciones de estilo y formato.