

MRSA Assay (Panther Fusion™ System)

Istruzioni per l'uso
Per uso diagnostico *in vitro*
Solo per l'esportazione dagli USA

SOMMARIO

Informazioni generali	2
Usò previsto	2
Riepilogo e spiegazione del test	2
Riepilogo di sicurezza e prestazioni	3
Principi della procedura	3
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	7
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	8
Reagenti e materiali forniti	9
Reagenti e materiali forniti	9
Materiali richiesti e disponibili separatamente	9
Procedura di analisi del Panther Fusion System	11
Note procedurali	12
Controllo della qualità	13
Controlli positivi e negativi	13
Controllo interno	13
Interpretazione dei risultati	14
Limiti	15
Prestazioni del test Panther Fusion System Assay	16
Riproducibilità del test	16
Prestazioni cliniche	17
Sensibilità analitica	19
Reattività analitica (inclusività)	19
Specificità analitica	19
Interferenza competitiva	21
Interferenza	21
Contaminazione crociata	22
Precisione del test	22
Bibliografia	24
Recapiti e Cronologia delle revisioni	25

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Panther Fusion™ MRSA assay (Test MRSA di Panther Fusion™) è un test diagnostico *in vitro* automatizzato che utilizza la chimica di Invader Plus™ per il rilevamento e la differenziazione qualitativi dello *Staphylococcus aureus* (SA) e del DNA dello *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (MRSA) da campioni biologici di tamponi nasali. Questo test è destinato all'uso sul Panther Fusion System per contribuire alla prevenzione e al controllo delle infezioni da MRSA/SA in contesti sanitari.

Riepilogo e spiegazione del test

Lo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) è considerato parte della normale flora umana e potrebbe colonizzare le narici anteriori, la gola, il perineo, l'inguine e la pelle.¹ La maggior parte dei portatori è asintomatica e i batteri colonizzatori non causano malattie. Tuttavia, nei contesti sanitari le infezioni da *S. aureus* possono essere gravi o letali. I sintomi dell'infezione invasiva da *S. aureus* vanno da lievi infezioni della pelle (foruncoli e ascessi) a batteriemia, sepsi, endocardite, osteomielite e polmonite.¹

L'uso diffuso della meticillina antibiotica β -lattamica, un derivato della penicillina, ha portato all'emergere di alcuni ceppi di *S. aureus* (SA) resistenti agli antibiotici, chiamati *S. aureus* resistenti alla meticillina (MRSA). La resistenza agli antibiotici nell'MRSA è in gran parte conferita dall'espressione del gene *mecA*, che è trasportato dal cromosoma a cassetta stafilococcico *mec* (SCC*mec*). Il gene *mecA* codifica la proteina legante la penicillina 2a (PBP2a), un enzima coinvolto nella sintesi della parete cellulare resistente all'inibizione da parte degli antibiotici β -lattamici¹. Un gene del meccanismo di resistenza alternativo e omologo, *mecC* è stato descritto in alcuni ceppi di *S. aureus* nel 2011.^{2,3} Il test Panther Fusion MRSA Assay rileva la presenza di *mecA* o *mecC*, nonché il sito di inserimento di SCC*mec* in un quadro di lettura aperto conservato (*orfX*) nel genoma di *S. aureus*, noto anche come giunzione *orfX*/SCC*mec*.

Le escissioni genetiche all'interno dell'elemento SCC*mec* possono portare alla mancanza di un gene *mecA* funzionale, risultante in una cosiddetta "variante a cassetta vuota" trasportata da alcuni ceppi di *S. aureus* (MSSA) sensibili alla meticillina che contengono la sequenza bersaglio *orfX*/SCC*mec* ma negativi per i segnali *mecA*/*mecC*. Specie di stafilococchi coagulasi-negativi (CoNS) come *Staphylococcus epidermidis* che comunemente colonizza la pelle, possono anche trasportare il gene *mecA*⁴ ma non la sequenza bersaglio della giunzione *orfX*/SCC*mec* specifica per *S. aureus*. Pertanto, per evitare risultati falsi positivi da varianti a "cassetta vuota" o campioni contenenti specie miste di stafilococchi⁵, il test Panther Fusion MRSA Assay rileva contemporaneamente la presenza di entrambi i bersagli di giunzione *mecA*/*mecC* e *orfX*/SCC*mec* per identificare l'MRSA. Il test Panther Fusion MRSA Assay rileva anche una variante GAPDH specifica per *S. aureus*, e quindi può differenziare SA suscettibile ai farmaci da ceppi farmaco-resistenti.

L'MRSA è considerato una causa significativa di infezioni correlate all'assistenza sanitaria (ICA) nell'UE.⁶ A causa della sua natura altamente invasiva e della limitata sensibilità al trattamento, l'MRSA è un onere clinico importante con morbilità e mortalità elevate.⁷ A causa dell'elevata prevalenza tra i pazienti ospedalizzati, è necessaria un'identificazione accurata e rapida dell'MRSA allo scopo di iniziare un'efficace terapia antimicrobica e rallentare la diffusione delle infezioni da MRSA.⁸ Metodi molecolari per il rilevamento di MRSA sono stati introdotti come alternativa più rapida ai tradizionali metodi di coltura, più dispendiosi in termini di tempo.

Riepilogo di sicurezza e prestazioni

L'SSP (Riepilogo di sicurezza e prestazioni) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegato agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare l'SSP relativo al test Panther Fusion MRSA Assay, fare riferimento al Basic Unique Device Identifier (BUDI): 54200455DIAGPFMRSADE.

Principi della procedura

Il Panther Fusion System automatizza completamente il trattamento dei campioni biologici (lisi cellulare, cattura di acidi nucleici, amplificazione e rilevamento) per il Panther Fusion MRSA Assay. Un controllo interno (IC-X) viene aggiunto automaticamente a ciascun campione tramite il Fusion Capture Reagent-X (wFCR-X) per monitorare l'interferenza durante il trattamento dei campioni biologici, l'amplificazione e il rilevamento causati da insufficienza di reagente o sostanze inibitorie.

Nota: il Panther Fusion System aggiunge IC-X a FCR-X. Dopo l'aggiunta di IC-X a FCR-X, è indicato come wFCR-X.

Trattamento dei campioni e cattura dell'acido nucleico: i campioni vengono prima incubati in un reagente alcalino (Panther Fusion Enhancer Reagent-X; FER-X) per lisare le cellule. L'acido nucleico rilasciato durante la fase di lisi si ibrida con particelle magnetiche in FCR-X. Le particelle di cattura sono separate dalla matrice di campione biologico residua in un campo magnetico tramite una serie di fasi di lavaggio con un detergente delicato. L'acido nucleico catturato viene quindi eluito dalle particelle magnetiche con un reagente a bassa forza ionica (Panther Fusion Elution Buffer).

Amplificazione Multiplex PCR e rilevamento Invader™: la miscela master di reazione a dose singola liofilizzata viene ricostituita con Panther Fusion Reconstitution Buffer II e combinata con l'acido nucleico eluito in una provetta di reazione. Viene aggiunto il reagente Panther Fusion Oil per prevenire l'evaporazione durante la reazione di Invader Plus.

Una reazione di Invader Plus è una combinazione di reazione a catena della polimerasi (PCR) e chimica di Invader. L'amplificazione del bersaglio basata su PCR avviene con primer avanti e indietro specifici per bersaglio. Il rilevamento del bersaglio e la generazione del segnale sono ottenuti tramite chimica Invader. Durante la fase di rilevamento una sonda primaria non marcata e un oligonucleotide invasore si ibridano sul DNA bersaglio, formando un complesso di DNA ternario riconosciuto e scisso da un enzima Cleavase™. Questa reazione di scissione rilascia un prodotto di scissione specifico per il bersaglio dalla sonda primaria. Il prodotto di scissione specifico per il bersaglio si ibrida quindi in una corrispondente cassetta di trasferimento di energia per risonanza di fluorescenza (FRET), portando a un'altra reazione di scissione. Ogni volta che una cassetta FRET viene scissa, il fluoroforo e il quencher corrispondenti vengono separati, generando un aumento del segnale di fluorescenza rilevabile.⁹ Il test utilizza sonde primarie specifiche per il bersaglio e cassette FRET accoppiate con fluorofori spettralmente distinti per i bersagli *orfX/SCCmec*, *mecA/C*, gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi (GAPDH) e di controllo interno. Il test ha come bersaglio un'isoforma GAPDH specifica per *S. aureus*. Il software per test Panther Fusion MRSA Assay calcola un risultato di soglia di ciclo (Ct) dal segnale fluorescente accumulato in ciascun canale fluorescente per determinare qualitativamente la presenza di ciascun bersaglio.

I bersagli e i corrispondenti canali fluorescenti utilizzati nel Panther Fusion MRSA Assay sono elencati nella tabella seguente:

Bersaglio	Canale
Giunzione <i>orfX</i> /SCC <i>mec</i>	FAM
Gene <i>mecA/C</i>	HEX
Gene GAPDH	ROX
Controllo interno	RED677

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Leggere attentamente questo foglietto illustrativo e il *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System*.

Pertinenti al laboratorio

- D. Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) è corrosivo, pericoloso se ingerito e provoca gravi ustioni alla pelle e lesioni agli occhi.
- E. Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo di questo test e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire queste procedure. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.
- F. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. L'esecuzione di questa procedura diagnostica va permessa solo a personale adeguatamente addestrato nella manipolazione di materiali infettivi.¹⁰
- G. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- H. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni biologici e reagenti.
- I. Smaltire tutto il materiale che è entrato in contatto con campioni biologici e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore.

Pertinenti ai campioni

- J. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- K. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. I campioni biologici possono contenere livelli di batteri o altri organismi


estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.






- L. Non utilizzare il kit di raccolta ESwab se è danneggiato e non utilizzarlo dopo la data di scadenza.

In relazione con il test

- M. Non utilizzare i reagenti e i controlli dopo la data di scadenza.
- N. Conservare i componenti dei test alle condizioni di conservazione raccomandate. Consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti e Procedura di analisi del Panther Fusion System* per maggiori informazioni.
- O. Non combinare liquidi o reagenti del test. Non rabboccare reagenti o liquidi: il Panther Fusion System verifica i livelli dei reagenti.
- P. Evitare la contaminazione microbica e da nucleasi dei reagenti.
- Q. I requisiti del controllo di qualità devono essere analizzati in conformità alle normative nazionali, internazionali e/o regionali in vigore o ai requisiti di accreditamento e le procedure di controllo di qualità standard del proprio laboratorio.
- R. Non utilizzare la cartuccia del test se il sacchetto di conservazione non presenta più il sigillo o se la pellicola della cartuccia del test non è integra. Contattare l'assistenza tecnica Hologic se dovesse verificarsi uno di questi eventi.
- S. Non utilizzare astucci di liquidi danneggiati o con perdite. Contattare l'assistenza tecnica Hologic se dovesse verificarsi un tale evento.
- T. Manipolare con cura le cartucce del test. Non far cadere o capovolgere le cartucce del test. Evitare l'esposizione prolungata alla luce ambientale.
- U. Alcuni dei reagenti utilizzati con il Panther Fusion MRSA Assay sono etichettati con simboli di rischio e di sicurezza.

Nota: le informazioni sulla comunicazione dei pericoli riflettono le classificazioni delle schede di sicurezza (SDS) dell'UE e del Nord America. Per informazioni relative alla comunicazione sui pericoli, specifiche per la propria regione, fare riferimento alla scheda SDS specifica della regione nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologicds.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli all'indirizzo www.hologic.com/package-inserts.

Informazioni sui pericoli nell'UE	
	<p>Panther Fusion Oil POLYDIMETHYLSILOXANE 100%</p> <p>AVVERTENZA H315 - Provoca irritazione cutanea H319 - Provoca grave irritazione oculare</p>

	<p>Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X) <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 5-10%</i></p>
	<p>PERICOLO H302 - Nocivo se ingerito H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari P260 - Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso P303 + P361 + P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia P305 + P351 + P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare P310 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>
<p>Informazioni sui rischi USA</p>	
	<p>Olio 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>

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

A. La seguente tabella indica i requisiti di conservazione e manipolazione per questo test.

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Stabilità a bordo/aperta¹	Conservazione a confezione aperta
Cartuccia del test Panther Fusion MRSA Assay	Da 2 °C a 8 °C	60 giorni	Da 2 °C a 8 °C ²
Panther Fusion Capture Reagent-X (FCR-X)	Da 15 °C a 30 °C	30 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Enhancer Reagent-X (FER-X)	Da 15 °C a 30 °C	30 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Internal Control-X (IC-X)	Da 2 °C a 8 °C	(In wFCR-X)	Non applicabile
Tampone di eluizione Panther Fusion	Da 15 °C a 30 °C	60 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Oil	Da 15 °C a 30 °C	60 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Tampone di ricostituzione II Panther Fusion	Da 15 °C a 30 °C	60 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Controllo positivo Panther Fusion MRSA	Da 2 °C a 8 °C	Fiala monouso	Non applicabile - monouso
Controllo negativo II Panther Fusion	Da 2 °C a 8 °C	Fiala monouso	Non applicabile - monouso

Quando i reagenti vengono rimossi dal Panther Fusion System, riportarli immediatamente alle loro temperature di conservazione appropriate.

¹ La stabilità a bordo inizia nel momento in cui il reagente viene collocato sul Panther Fusion System per la cartuccia del test Panther Fusion MRSA Assay, FCR-X, FER-X e IC-X. La stabilità a bordo per il tampone di ricostituzione II Panther Fusion, il tampone di eluizione Panther Fusion e il reagente dell'olio Panther Fusion inizia quando la confezione di reagente viene utilizzata per la prima volta.

² Se la cartuccia del test viene rimossa dal Panther Fusion System, conservarla in un contenitore ermetico con essiccante alla temperatura di conservazione raccomandata.

- B. wFCR-X e FER-X sono stabili per 60 giorni quando chiusi e conservati tra 15 °C e 30 °C. Non refrigerare.
- C. Smaltire gli eventuali reagenti non utilizzati che non siano più stabili a bordo.
- D. I controlli sono stabili fino alla data indicata sulle fiale.
- E. Evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione e la conservazione del reagente.
- F. **Non congelare i reagenti.**

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Campioni biologici: materiale clinico raccolto dal paziente e collocato in un apposito sistema di trasporto. Per il Panther Fusion MRSA Assay, si tratta del sistema di raccolta e trasporto ESwab.

Campioni: un termine più generico che descrive qualsiasi materiale usato per l'analisi con il Panther Fusion System, inclusi campioni biologici e controlli.

***Nota:** maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.*

***Nota:** prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni biologici. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.*

A. Raccolta dei campioni

Prelevare un campione biologico ESwab nasale da entrambe le narici in base alla pratica standard della propria struttura o utilizzare le seguenti indicazioni:

1. Lavarsi le mani e indossare guanti puliti.
2. Aprire la confezione del tampone e rimuovere il tampone dalla confezione.
3. Inserire con cautela la parte floccata del tampone nella narice del paziente.
4. Premere delicatamente e far scorrere il tampone lungo la parte interna della narice 3 o 5 volte.
5. Ripetere il processo nell'altra narice usando lo stesso tampone.

***Nota:** per evitare la contaminazione, fare attenzione a non toccare lo stelo del tampone sotto il punto di rottura.*

6. Aprire la provetta contenente 1 ml di Amies liquido, posizionare il tampone del campione biologico nella provetta e rompere lo stelo del tampone nel punto di rottura.
7. Riapplicare il tappo sulla provetta e scartare la parte restante dello stelo del tampone.
8. Etichettare la provetta, se necessario.
9. Rimuovere i guanti e lavarsi le mani.

***Nota:** se l'Amies liquido fuoriesce prima che il tampone venga inserito nella provetta, posizionare il tampone del campione biologico in una nuova provetta contenente 1 ml di Amies liquido. Se il liquido nella provetta fuoriesce dopo aver posizionato il tampone nella provetta, prelevare un nuovo campione biologico nasale.*

B. Trasporto e conservazione dei campioni prima dell'analisi

Dopo il prelievo, trasportare e conservare il campione biologico nella provetta per un massimo di 48 ore a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C o fino a 5 giorni a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C.

C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi

1. Collocare le provette dei campioni biologici in posizione verticale in una rastrelliera per provette.
2. Posizionare un nuovo tappo sui campioni biologici analizzati.
3. Se i campioni biologici analizzati devono essere spediti, rimuovere i tappi penetrabili e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili. Mantenere le condizioni di conservazione del campione biologico durante il trasporto come descritto in *Trasporto e conservazione dei campioni prima dell'analisi*.

***Nota:** i campioni devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.*

Panther Fusion System

Reagenti e materiali forniti

Confezioni dei test

Componenti ¹	N. di cat.	Conservazione
Cartucce del test Panther Fusion MRSA Assay - 96 test Cartuccia del test Panther Fusion MRSA Assay, 12 test, 8 per confezione	PRD-04803	Da 2 °C a 8 °C
Controlli del test Panther Fusion MRSA Assay Provetta di controllo positivo Panther Fusion MRSA, 5 per confezione Provetta di controllo negativo Il Panther Fusion, 5 per confezione	PRD-04805	Da 2 °C a 8 °C
Panther Fusion Internal Control-X - 960 test Provetta di Panther Fusion Internal Control-X, 4 per confezione	PRD-04476	Da 2 °C a 8 °C
Panther Fusion Extraction Reagent-X - 960 test Flacone di Panther Fusion Capture Reagent-X, 240 test, 4 per confezione Flacone di Panther Fusion Enhancer Reagent-X, 240 test, 4 per confezione	PRD-04477	Da 15 °C a 30 °C
Tampone di eluizione Panther Fusion - 2400 test Confezione di tamponi di eluizione Panther Fusion, 1200 test, 2 per confezione	PRD-04334	Da 15 °C a 30 °C
Tampone di ricostituzione Il Panther Fusion - 1920 test Tampone di ricostituzione Il Panther Fusion, 960 test, 2 per confezione	PRD-04804	Da 15 °C a 30 °C
Reagente oleoso Panther Fusion - 1920 test Reagenti oleosi Panther Fusion, 960 test, 2 per confezione	PRD-04335	Da 15 °C a 30 °C

¹ I componenti possono essere ordinati anche nei seguenti gruppi:

Kit dei liquidi universali Panther Fusion, PRD-04430, contiene 1 olio Panther Fusion e 1 tampone di eluizione Panther Fusion ciascuno.

Materiali richiesti e disponibili separatamente

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

Materiale	N. di cat.
Panther System	303095
Aggiornamento modulo Panther Fusion	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Kit di liquidi per test Aptima Assay (soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima)	303014 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731

Materiale	N. di cat.
Coperchio del contenitore per rifiuti Panther	504405
Oppure kit procedurale Panther System per test in tempo reale contiene MTU, sacchetti per rifiuti, coperchi del contenitore per i rifiuti, liquidi del test	PRD-03455 (5000 test)
Oppure kit procedurale Panther System (quando si eseguono test TMA Assay parallelamente a test Panther Fusion Assay) contiene MTU, sacchetti per rifiuti, coperchi del contenitore per i rifiuti, rilevamenti automatici* e liquidi del test	303096 (5000 test)
Vassoi per provette Panther Fusion, 1008 analisi, 18 vassoi per confezione	PRD-04000
Puntali, 1000 µL, con filtro, conduttivi, rilevatori di liquido e monouso. Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche sulla regione geografica	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Sistema di raccolta e trasporto Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab™) o equivalente Sistema di raccolta e trasporto BD™ Liquid Amies Elution Swab (ESwab)	480C o 480CE (Copan) 220245 (Becton Dickinson)
Tappi penetrabili Aptima	105668
Tappi non penetrabili di ricambio (facoltativi)	103036A
Tappi di sostituzione del flacone di reagente di estrazione	CL0040
Miscelatore vortex	—
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 8,25% (0,7 M – 1,16 M)	—
Guanti monouso senza talco	—

*Necessario solo per i test Panther Aptima TMA Assay.

Procedura di analisi del Panther Fusion System

Nota: per ulteriori informazioni sulla procedura, consultare il Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System.

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% - 3,5% (0,35 M - 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto e risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.

B. Preparazione del reagente

1. Rimuovere i flaconi IC-X, FCR-X e FER-X dal luogo di conservazione.
2. Aprire i flaconi IC-X, FCR-X e FER-X e smaltire i tappi. Aprire lo sportello del TCR sullo scomparto superiore del Panther Fusion System.
3. Collocare i flaconi di IC-X, FCR-X e FER-X nelle posizioni appropriate sul carosello del TCR.
4. Chiudere lo sportello del TCR.

Nota: il Panther Fusion System aggiunge IC-X al flacone FCR-X. Dopo l'aggiunta di IC-X a FCR-X, vi si fa riferimento come wFCR-X. Se wFCR-X e FER-X sono rimossi dal sistema, utilizzare nuovi tappi e conservare immediatamente in conformità alle corrette condizioni di conservazione.

C. Manipolazione dei campioni

1. Miscelare con vortex i campioni biologici per 5 secondi. Non capovolgere la provetta.
2. Rimuovere il cappuccio della provetta e il tampone dalla provetta.
3. Smaltire il tappo della provetta e il tampone secondo le procedure di laboratorio.
4. Posizionare un tappo perforabile sulla provetta.
5. Ispezionare le provette dei campioni biologici prima di caricarle sulla rastrelliera. Se una provetta del campione biologico contiene bolle o ha un volume inferiore rispetto a quello osservato normalmente, battere delicatamente sul fondo della provetta per eliminare le bolle e favorire il deposito del contenuto sulla parte inferiore.

Nota: per evitare un errore di trattamento, assicurarsi che il volume del campione biologico sia superiore a 500 µl. Vi è un volume sufficiente per eseguire 2 reazioni Panther Fusion da un campione biologico raccolto con il kit di raccolta ESwab.

D. Preparazione del sistema

Per istruzioni sulla configurazione del Panther Fusion System, tra cui il caricamento di campioni, reagenti, cartucce del test e liquidi universali, fare riferimento al *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System*.

Note procedurali

A. Controlli

1. Il controllo positivo Panther Fusion MRSA e il controllo negativo Il Panther Fusion possono essere caricati in qualsiasi posizione della rastrelliera, in qualsiasi corsia dello scomparto dei campioni sul Panther Fusion System.
2. Quando le provette di controllo vengono pipettate e trattate per il test Panther Fusion MRSA Assay, sono valide fino a 30 giorni (frequenza del controllo configurata da un amministratore) a meno che i risultati del controllo siano non validi o non venga caricato un nuovo lotto di cartucce del test.
3. Il controllo positivo Panther Fusion MRSA e il controllo negativo Il Panther Fusion possono apparire torbidi o contenere precipitati che non interferiranno con i risultati del test. Consentendo ai controlli di raggiungere la temperatura ambiente prima del trattamento, il precipitato si dissolverà. **Non miscelare con vortex i controlli.**
4. Ciascuna provetta di controllo può essere analizzata una volta.
5. La pipettatura dei campioni biologici del paziente inizia dopo aver soddisfatto una delle due seguenti condizioni:
 - a. I risultati validi dei controlli sono stati registrati nel sistema.
 - b. Un set di controlli è in fase di trattamento da parte del sistema.

Controllo della qualità

Il software per test Panther Fusion MRSA Assay potrebbe invalidare il risultato di una sessione analitica o di un campione biologico se si verificano problemi durante l'esecuzione del test. I campioni biologici con risultati non validi devono essere rianalizzati.

Controlli positivi e negativi

Per generare risultati validi, è necessario utilizzare un set di controlli del test. Un replicato del controllo positivo Panther Fusion MRSA Positive e del controllo negativo Il Panther Fusion deve essere analizzato ogniqualvolta è caricato un nuovo lotto di cartucce di test sul Panther Fusion System oppure quando il set corrente di controlli validi per un lotto attivo di cartucce di test è scaduto.

Il Panther Fusion System è configurato in modo che richieda analisi di controlli del test a un intervallo specificato dall'amministratore di un massimo di 30 giorni. Il software sul Panther Fusion System avvisa l'operatore quando sono necessari controlli del test e non avvia nuove analisi finché i controlli del test non vengono caricati e non hanno iniziato il trattamento.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettabilità dei controlli del test vengono verificati automaticamente dal Panther Fusion System. Per generare risultati validi, i controlli del test devono superare una serie di verifiche di validità eseguite dal Panther Fusion System.

Se i controlli del test superano tutte le verifiche di validità, sono considerati validi per l'intervallo di tempo specificato dall'amministratore. Quando l'intervallo di tempo è trascorso, il Panther Fusion System contrassegna i controlli del test come scaduti ed è richiesta una nuova serie di controlli del test prima di avviare nuovi campioni biologici.

Se uno dei controlli del test non supera le verifiche di validità, il Panther Fusion System annulla automaticamente i campioni interessati e richiede una nuova serie di controlli del test prima di avviare analisi di nuovi campioni biologici.

Controllo interno

Un controllo interno è aggiunto a ciascun campione durante il trattamento automatizzato dei campioni biologici sul Panther Fusion System. Durante il trattamento, i criteri di accettabilità del controllo interno vengono verificati automaticamente dal software del Panther Fusion System. Il rilevamento del controllo interno non è richiesto per campioni positivi per bersagli di test. Il controllo interno deve essere rilevato in tutti i campioni risultati negativi ad eventuali bersagli di test. I campioni che non soddisfano i criteri sono segnalati come non validi. Ogni campione biologico con un risultato non valido deve essere rianalizzato.

Il Panther Fusion System è progettato per verificare in maniera accurata i processi quando le procedure vengono eseguite rispettando le istruzioni fornite nel presente foglietto illustrativo e nel *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System*.

Interpretazione dei risultati

Il software di test Panther Fusion MRSA Assay determina automaticamente i risultati per campioni biologici e controlli. I risultati per SA e MRSA sono segnalati separatamente. Un risultato può essere SA negativo e MRSA negativo, SA positivo e MRSA negativo, SA positivo e MRSA positivo o non valido. I campioni biologici con risultati non validi devono essere rianalizzati.

La Tabella 1 mostra i possibili risultati indicati con le corrispondenti interpretazioni dei risultati.

Tabella 1: Interpretazione del test

<i>orfX</i> /SCC <i>mec</i> (FAM)	<i>mecA</i> /C (HEX)	GAPDH (ROX)	Controllo interno (RED677)	Risultato	
				MRSA	SA
+	+	+	+/-	Positivo	Positivo
+	-	+	+/-	Negativo	Positivo
-	+	+	+/-	Negativo	Positivo
-	-	+	+/-	Negativo	Positivo
+	-	-	+/-	Negativo	Negativo
-	+	-	+/-	Negativo	Negativo
+	+	-	+/-	Negativo	Negativo
-	-	-	+	Negativo	Negativo
-	-	-	-	Non valido	Non valido

Limiti

- A. L'utilizzo di questo test va limitato al personale addestrato nella relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite può determinare risultati erranei.
- B. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione biologico.
- C. Evitare la contaminazione aderendo alle buone pratiche di laboratorio e alle procedure specificate nel presente foglietto illustrativo.
- D. Il Panther Fusion MRSA Assay è stato convalidato unicamente per l'uso con campioni biologici di tamponi nasali raccolti con il Sistema di raccolta e trasporto Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) oppure l'equivalente Sistema di raccolta e trasporto BD Liquid Amies Elution Swab (ESwab).
- E. Raccogliere i campioni biologici di tamponi nasali seguendo le procedure nel foglietto illustrativo per il Sistema di raccolta e trasporto ESwab.
- F. Nuovi ceppi MRSA o SA con mutazioni o polimorfismi nelle regioni di legame con primer o sonda potrebbero non essere rilevati con il Panther Fusion MRSA Assay. I campioni positivi per i bersagli GAPDH e *mecA/mecC* ma negativi per il bersaglio della giunzione *orfX/SCCmec* possono rappresentare falsi negativi a causa di tipi di MRSA SCCmec/MREJ nuovi o insoliti. Tali campioni possono richiedere un'ulteriore discriminazione attraverso metodi di rilevamento alternativi.
- G. Il Panther Fusion MRSA Assay potrebbe generare un risultato MRSA falso positivo durante l'analisi di un campione biologico nasale con infezione mista contenente sia stafilococchi coagulasi-negativi resistenti alla meticillina sia cassette vuote SA.
- H. *S. argenteus*, una specie coagulasi-positiva del genere *Staphylococcus* che è strettamente correlata a *S. aureus*, è rara ma può generare un risultato falso positivo nel test Panther Fusion MRSA Assay.

Prestazioni del test Panther Fusion System Assay

Riproducibilità del test

La riproducibilità del Panther Fusion MRSA Assay è stata valutata su tre siti utilizzando un pannello per la valutazione della riproducibilità a 5 membri. L'analisi è stata eseguita utilizzando un lotto di reagenti del test e sei operatori (due per ciascun sito). In ciascun sito, l'analisi è stata eseguita due volte al giorno (un'esecuzione per operatore), per almeno cinque giorni. Ciascuna esecuzione era caratterizzata da tre repliche di ciascun elemento del pannello.

Gli elementi del pannello sono descritti in Tabella 2, insieme a un riepilogo della concordanza con i risultati previsti per ogni elemento del pannello. La Tabella 3 presenta l'analisi media e di variabilità tra siti, tra operatori, tra giorni, tra e durante sessioni analitiche, nonché complessivamente (totale) per i valori Ct.

Tabella 2: Percentuale di concordanza col risultato previsto

Elemento del pannello		% concordanza			Concordanza totale
Descrizione	Concentrazione	Sito 1	Sito 2	Sito 3	
MRSA moderatamente positivo	MRSA a 2-3X LoD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
MRSA a bassa positività	MRSA a 1-2X LoD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
SA moderatamente positivo	SA a 2-3X LoD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
SA a bassa positività	SA a 1-2X LoD	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)
Negativo	SNM non addizionata	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (30/30)	100,0% (90/90)

LoD = limite di rilevamento, SNM = matrice nasale simulata.

Tabella 3: Variabilità del valore Ct

Elemento del pannello			N POS	Media Ct	Tra siti diversi		Tra operatori diversi		Tra giorni diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Durante le sessioni analitiche		Totale	
Descrizione	Concentrazione	Bersaglio			DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
MRSA moderatamente positivo	MRSA a 2-3X LoD	<i>orfX/SCCmec</i>	90	34,0	0,3	0,8	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,5	1,4	0,6	1,7
		<i>mec A/C</i>	90	35,1	0,3	0,9	0,0	0,0	0,2	0,6	0,1	0,4	0,4	1,2	0,6	1,7
		GAPDH	90	33,2	0,3	0,9	0,1	0,3	0,1	0,4	0,1	0,4	0,4	1,3	0,6	1,7
MRSA a bassa positività	MRSA a 1-2X LoD	<i>orfX/SCCmec</i>	90	35,2	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	1,8	0,7	1,9
		<i>mec A/C</i>	90	36,2	0,3	0,7	0,0	0,0	0,1	0,3	0,1	0,3	0,5	1,4	0,6	1,6
		GAPDH	90	34,2	0,3	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,4	1,3	0,6	1,6
SA moderatamente positivo	SA a 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 a bassa positività	SA a 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
Negativo	Solo SNM (non addizionata)	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 = soglia di ciclo, CV = coefficiente di variazione, LoD = limite di rilevamento, POS = positivo, DS = deviazione standard, SNM = matrice nasale simulata.

Prestazioni cliniche

Le prestazioni cliniche sono state valutate confrontando i risultati con il Panther Fusion MRSA Assay ai risultati con un test di riferimento per il test degli acidi nucleici (NAT) IVD.

I campioni biologici di tamponi nasali sono stati raccolti in un ospedale statunitense con il Sistema di trasporto Copan ESwab liquid Amies. Un'aliquota del campione biologico è stata analizzata con un test di riferimento NAT IVD. Il campione biologico residuo è stato quindi congelato, spedito a Hologic e analizzato con il Panther Fusion MRSA Assay.

Un totale di 805 campioni biologici sono stati analizzati per SA e MRSA con il Panther Fusion MRSA Assay e il test di riferimento.

Rispetto al metodo di riferimento, la sensibilità e la specificità del Panther Fusion MRSA Assay erano rispettivamente del 95,6% e del 96,8% per quanto attiene al rilevamento di MRSA (Tabella 4) e rispettivamente del 95,9% e del 95,7% per il rilevamento di SA (Tabella 5).

Inoltre, almeno uno studio facente parte della letteratura scientifica sottoposto a revisione tra pari ha valutato le prestazioni cliniche del test Panther Fusion MRSA Assay utilizzando 434 campioni nasali di Eswab raccolti da un ospedale di Lione, in Francia. La concordanza complessiva tra i metodi di coltura primaria e il test Panther Fusion MRSA Assay era dell'88% (n=382/434) prima dell'analisi della discrepanza. A seguito di un'ulteriore analisi di campioni discrepanti con coltura arricchita e un test degli acidi nucleici clinicamente convalidato, la concordanza di Panther Fusion con un risultato consensuale determinato utilizzando metodi di coltura e di riferimento molecolare era del 97,5% per il rilevamento di SA (n=423/434; $\kappa = 0,943$; 95% CI = 90,9%; 97,6%) e 97,9% per il rilevamento di MRSA (n=425/434; $\kappa = 0,841$; 95% CI = 73,9%; 94,4%). I ricercatori dello studio hanno concluso che, dato l'eccellente concordanza con i metodi di riferimento, il test Panther Fusion MRSA Assay è uno strumento affidabile per lo screening rapido dell'MRSA¹¹.

Tabella 4: Prestazioni del Panther Fusion MRSA Assay rispetto al test di riferimento per il rilevamento di MRSA

MRSA		Test di riferimento		Totale
		POS	NEG	
Panther Fusion MRSA Assay	POS	109	22 ¹	131
	NEG	5 ¹	669	674
Totale		114	691	805
Sensibilità		95,6% (109/114) (IC al 95%: dal 90,1% al 98,1%)		
Specificità		96,8% (669/691) (IC al 95%: dal 95,2% al 97,9%)		
VPP		83,2% (109/131) (IC al 95%: dal 75,9% al 88,6%)		
VPN		99,3% (669/674) (IC al 95%: dal 98,3% al 99,7%)		
Percentuale concordanza		96,6% (778/805) (IC al 95%: dal 95,2% al 97,7%)		

NEG = negativo, VPN = valore predittivo negativo, POS = positivo, VPP = valore predittivo positivo.

¹ I campioni che hanno generato risultati di test MRSA discordanti tra il Panther Fusion MRSA Assay e il test di riferimento sono stati ulteriormente valutati utilizzando un metodo di colture di arricchimento.

Dei 22 campioni biologici falsi positivi del Panther Fusion MRSA Assay, 12 sono risultati positivi a MRSA dopo la risoluzione discordante della coltura di arricchimento.

Dei 5 campioni biologici falsi negativi del Panther Fusion MRSA Assay, 4 sono risultati negativi a MRSA dopo la risoluzione discordante della coltura arricchita.

Tabella 5: Prestazioni del Panther Fusion MRSA Assay rispetto al test di riferimento per il rilevamento di SA

SA		Test di riferimento		Totale
		POS	NEG	
Panther Fusion MRSA Assay	POS	234	24 ¹	258
	NEG	10 ¹	537	547
Totale		244	561	805
Sensibilità		95,9% (234/244) (IC al 95%: dal 92,6% al 97,8%)		
Specificità		95,7% (537/561) (IC al 95%: dal 93,7% al 97,1%)		
VPP		90,7% (234/258) (IC al 95%: dal 86,5% al 93,7%)		
VPN		98,2% (537/547) (IC al 95%: dal 96,7% al 99,0%)		
Percentuale concordanza		95,8% (771/805) (IC al 95%: dal 94,2% al 97,0%)		

NEG = negativo, VPN = valore predittivo negativo, POS = positivo, VPP = valore predittivo positivo.

¹ I campioni che hanno generato risultati di test SA discordanti tra il Panther Fusion MRSA Assay e il test di riferimento sono stati ulteriormente valutati utilizzando un metodo di colture di arricchimento.

Dei 24 campioni biologici falsi positivi del Panther Fusion MRSA Assay a SA, 11 sono risultati positivi a SA dopo la risoluzione discordante della coltura di arricchimento.

Dei 10 campioni biologici falsi negativi del Panther Fusion MRSA Assay a SA, 7 sono risultati negativi a SA dopo la risoluzione discordante della coltura arricchita.

Sensibilità analitica

Gli intervalli di confidenza al 95% per il limite di rilevamento (LoD) di MRSA e SA con il Panther Fusion MRSA Assay sono stati stabiliti analizzando la matrice nasale simulata (SNM) addizionata a concentrazioni multiple con due ceppi MRSA e un ceppo SA. Ventuno replicati sono stati analizzati con tre lotti di reagenti a ciascuna concentrazione per un totale di 63 replicati. Le concentrazioni LoD specifiche del bersaglio sono state stabilite mediante l'analisi Probit e verificate analizzando ulteriori ≥ 20 replicati con un unico lotto di reagente. Il CFU/ml ottenuto rappresentando il valore LoD per ogni ceppo è stato confermato dal conteggio delle piastre (Tabella 6).

Tabella 6: Sensibilità analitica

Ceppo	Origine (ID)	Tipo SCCmec	Limite di rilevamento (CFU/ml)
<i>S. aureus</i> (SA), Seattle 1945	ATCC (25923)	N/P	1.833
<i>S. aureus</i> resistente alla meticillina (MRSA), NYBK2464	ATCC (BAA-41)	II	2.383
<i>S. aureus</i> resistente alla meticillina (MRSA), HPV107	ATCC (BAA-44)	I	1.183

Reattività analitica (inclusività)

Una raccolta di ceppi MRSA e SA precedentemente caratterizzati e geograficamente diversi è stata utilizzata per valutare la reattività analitica del test Panther Fusion MRSA Assay. Un totale di 106 ceppi MRSA e 22 ceppi SA sono stati analizzati in SNM prossimo al LoD del test.

I ceppi di MRSA testati con il test Panther Fusion MRSA Assay sono stati raccolti da diverse località geografiche in 27 diversi Paesi e rappresentavano diversi tipi e sottotipi di SCCmec (I, II, III, IV, IVa-e, IVg-h, V, VI, VII, VIII, IX e XI) e diversi tipi MREJ (i, ii, iii, iv, xii, xv, xviii e xxi). Anche il clone di Bengal Bay (ST772) è stato tra i ceppi di MRSA sottoposto ad analisi. Le concentrazioni inibitorie minime di oxacillina dei ceppi di MRSA sottoposti ad analisi variavano da basse ad alte (da 0,5 a più di 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Alcuni ceppi di MRSA e SA erano anche precedentemente caratterizzati da elettroforesi su gel a campo pulsato (PFGE) e sono stati sottoposti ad analisi diversi tipi di PFGE (USA100-1200 inclusi USA300-0114, CC130, WA-MRSA e iberico). I ceppi SA testati includevano 9 ceppi varianti a cassetta vuota e 8 ceppi di *S. aureus* (BORSA) resistenti all'oxacillina borderline.

Tutti i ceppi sottoposti ad analisi sono stati correttamente identificati come MRSA o SA dal test Panther Fusion MRSA Assay, dimostrando che il test Panther Fusion MRSA Assay ha identificato correttamente diversi ceppi di *S. aureus* resistenti alla meticillina come MRSA positivo e *S. aureus* sensibile alla meticillina come SA positivo e MRSA negativo.

Specificità analitica

La specificità analitica del Panther Fusion MRSA Assay è stata valutata analizzando 95 organismi non bersaglio comunemente presenti nel naso (Tabella 7). I batteri (77 ceppi) e il lievito (2 ceppi) sono stati analizzati a concentrazioni di 10^6 CFU/ml o IFU/ml o copie/ml. I virus (16 ceppi) sono stati analizzati a concentrazioni di 10^5 PFU/ml. Ogni organismo è stato aggiunto a SNM e analizzato in presenza e assenza di MRSA o SA a 3X LoD. Non è stata osservata alcuna reattività crociata. Non è stata osservata alcuna interferenza in presenza di organismi.

Tabella 7: Microorganismi comunemente trovati in campioni nasali e analizzati ai fini della per reattività crociata

Virus		
Adenovirus di tipo 1	Virus del morbillo	Influenza A H1N1
Adenovirus di tipo 7A	Virus parotitico	Virus parainfluenzale di tipo 1
Citomegalovirus	Virus parainfluenzale di tipo 3	Virus parainfluenzale di tipo 2
Enterovirus di tipo 68	Virus respiratorio sinciziale di tipo B	Rhinovirus di tipo 1A
Metapneumovirus umano (hMPV) 18 di tipo B2	Ceppo coronavirus 229E	
Influenza B	Virus di Epstein-Barr	
Batteri e funghi		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus equorum</i>
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	<i>Legionella wadsworthii</i>	<i>Staphylococcus felis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus gallinarum</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis avirulent</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus kloosii</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	<i>Staphylococcus lentus</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
<i>Corynebacterium aquaticus (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 (Salmonella enterica subsp. 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 subsp. Urealyticum</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Staphylococcus delphini</i>	
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis (MRSE)</i>	

Interferenza competitiva

Infezioni miste di MRSA con SA, MRSA con *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) e SA con MRSE sono state valutate con il Panther Fusion MRSA Assay, mediante analisi del bersaglio del test (MRSA o SA) prossimo al limite di rilevamento in presenza di un organismo microbico concorrente a concentrazione elevata. I risultati mostrati in Tabella 8 indicano che la sensibilità del rilevamento di MRSA e SA non è stata influenzata da infezioni miste nelle condizioni analizzate.

Tabella 8: Interferenza competitiva

Microrganismo concorrente		Bersaglio		Risultati del test Panther Fusion MRSA Assay	
Descrizione	Concentrazione	Descrizione	Concentrazione	MRSA	SA
SA	1,8 x 10 ⁷ CFU/ml	MRSA	3X LoD	+	+
MRSE	1,8 x 10 ⁷ CFU/ml	MRSA	3X LoD	+	+
MRSE	2,7 x 10 ⁷ CFU/ml	SA	3X LoD	-	+

CFU = unità formanti colonie, LoD = limite di rilevamento.

Interferenza

Le sostanze potenzialmente interferenti che potrebbero essere presenti nei campioni biologici sono state valutate con il Panther Fusion MRSA Assay. Le concentrazioni clinicamente rilevanti delle molteplici sostanze endogene ed esogene (Tabella 9) sono state analizzate rispettivamente in assenza e presenza di MRSA e SA in prossimità del LoD. Nessuna delle sostanze alle concentrazioni analizzate ha influenzato le prestazioni del Panther Fusion MRSA Assay.

Tabella 9: Sostanze potenzialmente interferenti

Tipo	Sostanza	Ingredienti attivi	Concentrazione
Sostanza endogena	Sangue	Sangue umano al 100%	v/v al 5%
	Mucina	Mucine di bovino dalla ghiandola sottomascellare	w/v allo 0,5%
Farmaci da banco	Afrin	cloridrato di oximetazolina allo 0,05%	v/v al 15%
	Soluzione da nebulizzare Dristan	cloridrato di oximetazolina allo 0,05%	v/v al 15%
	Otrivin	cloridrato di xilometazolina allo 0,1%	v/v al 15%
	Spray nasale salino	cloruro di sodio allo 0,65% (0,65%)	v/v al 15%
	Neo-Synephrine	fenilefrina cloridrato all'1,0%	v/v al 15%
	Pastiglia per la gola Chloraseptic	Benzocaina allo 0,4% (15 mg in 1 pastiglia) e metanolo allo 0,3% (10 mg in 1 pastiglia)	w/v allo 15%
	Gel nasale Zicam	cloridrato di oximetazolina allo 0,05%	w/v allo 15%
	Flonase	Fluticasone propionato allo 0,05%	v/v al 15%
Spray nasale NasalCrom	Sodio cromoglicato	v/v al 15%	

Tabella 9: Sostanze potenzialmente interferenti (continua)

Tipo	Sostanza	Ingredienti attivi	Concentrazione
Farmaci su prescrizione	Taro-Mupirocin, Unguento Mupirocin USP, 2%	Mupirocina	0,5 mg/ml
	Relenza	Zanamivir da 5 mg	2,0 mg/ml
	Tobramicina	Tobramicina	4,5 mg/ml
	Soluzione nasale Flunisolide USP, 0,025%	Flunisolide	0,12 mg/ml
	Beconase AQ	Beclometasone	0,4 mg/ml

v/v = volume/volume, w/v = peso/volume.

Contaminazione crociata

La contaminazione crociata è stata valutata in nove separate sessioni analitiche su tre strumenti. Ciascuna sessione analitica includeva campioni negativi alternati (SNM) e campioni ad alta positività (SNM contenente 1×10^7 CFU/ml MRSA). Il tasso di contaminazione crociata era pari allo 0,0%.

Precisione del test

La precisione del test Panther Fusion MRSA Assay è stata valutata con campioni biologici artificiali in corrispondenza o in prossimità del LoD da tre operatori su due sessioni analitiche distinte al giorno, utilizzando tre lotti di reagenti su tre strumenti Panther Fusion per 35 giorni.

Tabella 10 mostra il tasso di positività (%) e la percentuale di concordanza (CI al 95%).

Tabella 11 mostra l'analisi media e di variabilità dei valori Ct tra strumenti, tra operatori, tra lotti, tra giorni, tra sessioni analitiche e durante queste ultime, nonché complessivamente.

Tabella 10: Percentuale di concordanza sul risultato previsto

Bersaglio	Elemento del pannello		% positiva per tipo di bersaglio (N positivo/N valido)	% concordanza (IC al 95%)
	Descrizione	Concentrazione (in SNM)		
MRSA	MRSA moderatamente positivo	MRSA a 2-3X LoD	100,0% (160/160)	100,0% (97,7 - 100%)
	MRSA a bassa positività	MRSA a 1-2X LoD	99,4% (159/160)	99,4% (96,5 - 99,9%)
SA	SA moderatamente positivo	SA a 2-3X LoD	100,0% (160/160)	100,0% (97,7 - 100%)
	SA a bassa positività	SA a 1-2X LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
Negativo	Negativo	Solo SNM (non addizionata)	0,0% (0/162)	100,0% (97,7 - 100%)

IC = intervallo di confidenza, LoD = limite di rilevamento, SNM = matrice nasale simulata.

Tabella 11: Variabilità del valore Ct

Elemento del pannello	Bersaglio	N POS	Media Ct	Tra strumenti diversi		Tra operatori diversi		Tra lotti diversi		Tra giorni diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Durante le sessioni analitiche		Totale	
				DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
MRSA moderatamente positivo	<i>orfX/SCCmec</i>	160	33,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,2	0,5	0,2	0,6	0,4	1,1	0,5	1,5
	<i>mec A/C</i>	160	35,2	0,1	0,3	0,1	0,3	0,3	1,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,4	1,0	0,6	1,7
	GAPDH	160	33,4	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3	0,8	0,1	0,4	0,2	0,5	0,3	0,9	0,5	1,5
MRSA a bassa positività	<i>orfX/SCCmec</i>	160	35,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,2	0,5	0,1	0,3	0,0	0,0	0,6	1,8	0,7	1,9
	<i>mec A/C</i>	160	36,5	0,1	0,3	0,1	0,4	0,3	0,9	0,2	0,5	0,0	0,0	0,6	1,7	0,7	2,0
	GAPDH	159	34,6	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3	0,8	0,1	0,4	0,0	0,0	0,5	1,5	0,6	1,9
SA moderatamente positivo	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 a bassa positività	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 = soglia di ciclo, CV = coefficiente di variazione, POS = positivo, DS = deviazione standard.

Bibliografia

1. Murray, P., Rosenthal, K., Kobayashi, G., and Pfaller, M. 2002. Medical Microbiology (4th Ed.), pp. 207-216. Mosby, St. Louis, MO.
2. García-Álvarez, L., Holden, M.T.G., Lindsay, H., Webb, C.R., Brown, D.F.J., Curran, M.D., Walpole, E., Brooks, K., Pickard, D.J., Teale, C., Parkhill, J., Bentley, S.D., Edwards, G.F., Girvan, E.K., Kearns, A.M., Pichon, B., Hill, R.L., Larsen, A.R., Skov, R.L., Peacock, S.J., Maskell, D.J. e 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. e Coleman, D.C. 2011. Detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 55(8): 3765-3773. doi: 0.1128/AAC.00187-11.
4. Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. 2014. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*, 27(4), 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>.
5. Huletsky, A., Giroux, R., Rossbach, V., Gagnon, M., Vaillancourt, M., Bernier, M., Gagnon, F., Truchon, K., Bastien, M., Picard, F. J., van Belkum, A., Ouellette, M., Roy, P. H., & Bergeron, M. G. 2004. New real-time PCR assay for rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from specimens containing a mixture of staphylococci. *J Clin Microbiol*, 42(5), 1875–1884. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.5.1875-1884.2004>.
6. Köck, R., Becker, K., Cookson, B., van Gemert-Pijnen, J.E., Harbarth, S., Kluytmans, J., Mielke, M., Peters, G., Skov, R.L., Struelens, M.J., Tacconelli, E., Navarro Torné, A., Witte, W., and Friedrich, A.W. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill.* 15(41), pii=19688. Disponibile online all'indirizzo: <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. Sito Web CLSI, <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Consultato a settembre 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>.

Recapiti e Cronologia delle revisioni



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



Indirizzo sponsor australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'Assistenza tecnica e del servizio di assistenza clienti specifici del paese, visitare l'indirizzo www.hologic.com/support.

Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso nel campo della diagnostica umana in vitro.

In caso di incidente grave, informare il produttore e l'autorità competente nella propria area geografica.

Hologic, Aptima, Cleavase, Invader, Invader Plus, Panther e Panther Fusion e i relativi loghi sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri Paesi.

ESwab è un marchio commerciale di Copan Diagnostics, Inc.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito www.hologic.com/patents.

© 2017-2022 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-22789-701 Rev. 001
2022-06

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-22789-001-Rev. 001	Giugno 2022	<ul style="list-style-type: none"> Creazione delle Istruzioni per l'uso del Test Panther Fusion MRSA Assay basate su AW-18028-001 Rev. 003 per la conformità normativa con il Regolamento sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVDR). Riepilogo aggiornato e spiegazione delle informazioni sullo studio del test, delle prestazioni cliniche, della reattività analitica (inclusività) e della contaminazione da trascinalamento/contaminazione crociata e la sezione Materiali necessari e disponibili separatamente. Informazioni di contatto aggiornate, tra cui: informazioni relative al rappresentante presso la Comunità europea, al marchio CE, al rappresentante australiano e all'assistenza tecnica. Aggiornamenti vari di stile e formattazione.