MRSA Multiplex Real-time PCR Kit, IVD

Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD

REF MD04931, 96 reacciones

Solo para uso diagnóstico in vitro profesional

CE IVD

ES

Instrucciones de Uso

IM-009es

VERSION 01/2023, Marzo 2023

NZYTech genes & enzymes
Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal
Tel.:+351.213643514 Fax: +351.217151168
www.nzytech.com

Contenido

1. Introducción ... 3
2. Uso previsto ... 4
3. Principios de la prueba ... 4
4. Composición del kit ... 5
5. Condiciones de almacenamiento, estabilidad y manipulación ... 6
6. Materiales e instrumentación necesarios pero no proporcionados ... 6
7. Recolección y preparación de muestras ... 6
8. Precauciones y Advertencias ... 7
   8.1 Información de seguridad ... 7
   8.2 Requisitos de manipulación y procedimiento ... 7
9. Procedimiento de prueba ... 8
   9.1 Configuración de la reacción ... 8
   9.2 Programación del instrumento de PCR en tiempo real ... 9
10. Análisis de los datos ... 10
   10.1 Ejecutar criterios de validación ... 10
   10.2 Interpretación de los resultados de la prueba ... 11
11. Evaluación del desempeño ... 12
   11.1 Resultados previstos ... 12
   11.2 Límite de detección (LdD) - Sensibilidad analítica ... 13
   11.3 Especificidad Analítica ... 13
      11.3.1 Reactividad Cruzada (Exclusión) y Especificidad ... 13
      11.3.2 Sustancias que interfieren ... 14
   11.4 Precisión ... 15
      11.4.2 Repetibilidad ... 17
      11.4.3 Reproducibilidad diaria ... 17
      11.4.4 Reproducibilidad lote a lote ... 18
      11.4.5 Reproducibilidad entre operadores ... 18
      11.4.6 Reproducibilidad entre instrumentos ... 18
   11.5 Evaluación clínica ... 18
12. Control de calidad ... 19
13. Apoyo técnico ... 19
14. Marcas registradas y descargos de responsabilidad ... 19
15. Explicación de los símbolos ... 20
16. Declaración de conformidad ... 21
17. Referencias ... 22

1. Introducción

En todo el mundo, el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) es uno de los patógenos humanos más frecuentes de infecciones nosocomiales y comunitarias. *S. aureus* tiene una notable capacidad para adquirir resistencia a los antibióticos, lo que tiene importantes implicaciones para las opciones terapéuticas de esta bacteria patógena. En la década de 1960, MRSA se observó por primera vez entre aislados clínicos de pacientes hospitalizados en el Reino Unido, pero desde la década de 1990 se ha propagado rápidamente en la comunidad. Durante la última década, las infecciones por MRSA han aumentado considerablemente, convirtiéndolo en un tema de gran importancia. Las infecciones por MRSA generalmente se subcategorizan en MRSA asociado a la comunidad (CA-MRSA), MRSA asociado a la atención médica (HA-MRSA) y MRSA asociado al ganado (LA-MRSA). *S. aureus* evoluciona a MRSA mediante la absorción, a través de la transferencia horizontal de genes, del casete cromosómico estafilocócico *mec* (SCC*mec*), un elemento genético móvil que codifica los genes mecA o mecC que confieren resistencia a la oxacilina y la meticilina y, por lo tanto, a la mayoría de los antibióticos betalactámicos. La resistencia estafilocócica a la oxacilina/meticilina ocurre cuando un aislado porta una proteína de unión a penicilina alterada, PBP2a, que está codificada por el gen *mec*A (o *mecC*). La nueva proteína de unión a penicilina se une a los β-lactámicos con menor avidez, lo que genera resistencia a esta clase de agentes antimicrobianos. Hasta la fecha, se han descrito 14 tipos de cassettes SCC*mec*, de los cuales los tipos I a V son los más frecuentes. El casete SCC*mec* tipo XI contiene otro homólogo de *mec*A, también denominado *mecC* o *mec*ALGA$_{251}$. Las muestras clínicas a menudo contienen *Staphylococcus* coagulasa negativo (CoNS) y *S. aureus*, todos los cuales pueden portar el gen *mec*A. Por lo tanto, dado que la detección de *mecA/mecC* por sí sola es insuficiente para identificar específicamente MRSA, las muestras deben analizarse específicamente para *S. aureus* en paralelo con la detección del gen *mecA/mecC*. Por lo tanto, para evitar la detección de falsos positivos debido a la presencia de *Staphylococcus aureu*s sensible a la meticilina (MSSA) o CoNS resistente a la meticilina y para detectar con precisión el MRSA descrito anteriormente en una muestra clínica, una región específica de *S. aureus* ubicada entre el el marco de lectura abierto conservado orfX y SCC*mec* que contiene el gen *mec*A/*mec*C deben ser el objetivo. Además, *S. aureus* produce una termonucleasa extracelular, codificada por el gen nuc específico de la especie, que se usa comúnmente para distinguir *S. aureus* de otras especies de *Staphylococcus spp*.

La detección de MRSA basada en cultivos requiere el aislamiento de colonias puras seguido de pruebas de susceptibilidad a los antibióticos, detección del gen *mec*A o detección de la proteína PBP2a. Este proceso tarda entre 24 y 72 horas en implementarse. Con la rapidez con la que se pueden propagar las infecciones por MRSA, especialmente en entornos de atención médica donde los portadores son comunes, la capacidad de proporcionar resultados de portación nasal de MRSA el día de la admisión representa una ventaja definitiva para los programas de prevención de infecciones. La aplicación de ensayos basados en PCR en tiempo real para la detección de MRSA a partir de hisopos nasales puede reducir el tiempo de respuesta a 1 o 2 horas. La detección rápida y precisa de MRSA permite que los pacientes infectados reciban un tratamiento específico y se introduzcan métodos de higiene apropiados para prevenir la transmisión y propagación de MRSA.

2. Uso previsto

El Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTech, es una prueba molecular basada en la tecnología de PCR en tiempo real, destinada a la detección rápida y el diagnóstico cualitativo de los ácidos nucleicos de MRSA a partir de hisopos nasales recolectados en un kit de transporte que contiene el medio Líquido Amies. Esta prueba está diseñada para ayudar en el diagnóstico de la infección por MRSA en combinación con los signos y síntomas clínicos del paciente y los factores de riesgo epidemiológicos. La prueba no pretende orientar ni controlar el tratamiento de las infecciones por MRSA. La técnica de PCR en tiempo real permite la detección de objetivos de ADN de MRSA específicos en la muestra, si están presentes. Un resultado negativo no excluye la colonización nasal de MRSA y no debe utilizarse como único instrumento para la decisión de tratamiento del paciente. No hay contraindicaciones para usar el kit de PCR en tiempo real multiplex para MRSA, IVD. Las pruebas las deben realizar técnicos de laboratorio especializados y calificados, especialmente en técnica de PCR en tiempo real y diagnóstico molecular *in vitro*. El kit solo debe usarse como se indica en este manual de usuario.

3. Principios de la prueba

El Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTech, proporciona el conjunto de reactivos, enzimas y oligonucleótidos (cebadores y sondas) para la detección cualitativa *de Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina , utilizando la técnica de PCR en tiempo real (consulte los requisitos de especificación del equipo en la **Sección 6**). El kit detecta secuencias objetivo de los genes *mec*A, *mec*C y nuc, así como la unión SCC*mec-orf*X. Estas regiones genómicas se describieron previamente como marcadores genéticos específicos para la identificación de MRSA. La resistencia de *S. aureus* a meticilina/oxacilina y otros antibióticos β-lactámicos la confieren los genes *mec*A y *mec*C. El gen *mec*A está localizado en el casete del gen SCCmec variable e inestable (casete estafilocócico cromosoma mec). El casete SCC*mec* tipo XI (SCC*mec* XI) contiene un homólogo de *mec*A, también denominado *mec*C. El gen *mec*C, que tiene solo un 70% de homología de nucleótidos con el *mec*A convencional, se ha descrito en aislados de *S. aureus* de humanos y ganado. La región de unión SCC*mec-orfX* se seleccionó específicamente para apuntar a la región entre un marco de lectura abierto conservado *orfX* en *S. aureus* y SCC*mec* que contiene el gen *mec*A. Finalmente, el gen *nuc* codifica una nucleasa termoestable de *S. aureus* que permite distinguir *S. aureus* de otros *Staphylococcus spp*. La detección de estos objetivos específicos garantiza que solo MRSA esté presente en la muestra.

El Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTech, fue diseñado para tener un perfil de detección amplio, sin dejar de ser específico para la detección de MRSA. Además, el conjunto de oligonucleótidos fue diseñado específicamente para la detección de este organismo y no muestra una homología significativa con otros genomas, lo que refleja la alta especificidad y sensibilidad de detección de la prueba. Como tal, el kit fue diseñado para ser específico para el MRSA y para evitar la detección de otros organismos que causan infecciones semejantes. El control interno, incluido en el kit, valida la eficacia del proceso de extracción de ácidos nucleicos, así como la ausencia de inhibidores de PCR potencialmente presentes en las muestras biológicas humanas. Periódicamente, NZYTech revisa la secuencia del objetivo de MRSA y, si es necesario, lanzará una nueva versión de este kit. Además, el kit incluye tres controles externos (dos controles positivos y un control negativo) según se describe a

continuación. Los controles positivos consisten en fragmentos del ácido nucleico que contienen todas las secuencias objetivo detectadas por el kit.

En este kit, la detección cualitativa de ADN se basa en la tecnología PCR en tiempo real, que es una metodología de referencia en el diagnóstico molecular de laboratorio. Es una metodología de alta sensibilidad y especificidad para detectar con precisión la presencia de este organismo. El kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA de NZYTech, IVD, se basa en el principio de investigar la presencia de ADN del MRSA, aislado y purificado con un sistema de extracción. El ADN extraído se somete a una amplificación por PCR, en una sola reacción, utilizando cinco conjuntos de cebador/sonda altamente específicos aprovechando el principio TaqMan®. En presencia de ADN del MRSA, las sondas TaqMan® se unen a regiones conservadas de los genes mecA, mecC y nuc, así como a una región específica de la unión SCC*mec-orf*X. Cada uno de estos cuatro objetivos está flanqueado por dos pares de cebadores específicos. Un quinto conjunto de cebadores/sonda actúa como control interno, detectando el gen *RNaseP* humano (RP). La detección del control interno valida la eficacia del proceso de extracción, y también permite confirmar si la reacción de PCR se vio comprometida por la presencia/ausencia de inhibidores en las muestras clínicas. Para permitir la identificación de la amplificación de los cinco objetivos específicos en una sola reacción, MRSA (cuatro conjuntos de cebadores/sonda) y RNasa P humana, las sondas específicas se etiquetan de manera diferente, es decir, con colorantes indicadores FAM™, HEX™, Texas Red® y Cy5™, respectivamente. Así, este kit consta de un ensayo pentaplex donde se detectan los objetivos *mec*A & *mec*C, unión SCC*mec/orf*X y nuc en los canales ópticos FAM, HEX/VIC/JOE y Texas Red/JUN, respectivamente, mientras se detecta el gen RP humano en el canal óptico Cy5. Estos oligonucleótidos/conjuntos de sondas se proporcionan en concentraciones optimizadas para garantizar que el ADN humano, incluso cuando está presente en concentraciones extremadamente altas, no limite la eficacia de los conjuntos de cebadores/sonda de MRSA.

4. Composición del kit

El Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTech, proporciona un conjunto completo de reactivos suficientes para realizar 96 reacciones de qPCR en un solo paso.

Componente del kit		**Volumen (por vial)**	**Número de tubos**	**Color de la tapa**
MRSA MMix	Mezcla maestra de sonda NZYSupreme qPCR Multiplex (2x)	1050 µL	1	Neutral
MRSA PPMix	Mezcla de cebadores y sondas de MRSA/RP (10x)	205 µL	1	Marrón
MRSA POS 1	Control positivo de MRSA/RP 1	105 µL	1	Roja
MRSA POS 2	Control positivo de MRSA/RP 2	105 µL	1	Roja
NTC	Control sin plantilla	105 µL	1	Neutral

5. Condiciones de almacenamiento, estabilidad y manipulación

El Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTechse envía refrigerado. Al recibir el kit, todos los componentes deben almacenarse inmediatamente entre -85 °C y -15 °C. Cuando esté en uso, los componentes del kit deben colocarse rápidamente en el congelador después de su uso para minimizar el tiempo de exposición a temperatura ambiente. Además:

- Minimice el número de ciclos de congelación y descongelación almacenando alícuotas de trabajo. Si corresponde, los componentes del kit se pueden dividir en alícuotas en volúmenes más pequeños después de descongelarlos. El kit es estable durante un mínimo de 6 ciclos de congelación y descongelación.
- El componente MRSA PPMix debe almacenarse protegido de la luz. En particular, no exponga MRSA MMix a la luz solar directa después de combinarlo con MRSA PPMix.
- Si el paquete que protege el kit llega dañado, comuníquese con NZYTech.
- Cuidado con la fecha de caducidad indicada en el envase. NZYTech no recomienda usar el kit después de la fecha de vencimiento. En esta fecha, el kit debe desecharse siguiendo las instrucciones de eliminación de la **Sección 8.2**.

6. Materiales e instrumentación necesarios, pero no proporcionados

- Equipo de PCR en tiempo real que detecta canales de fluorescencia FAM, HEX/VIC/JOE, Texas Red/JUN y Cy5 (a longitudes de onda de emisión de 520, 556, 615 y 670 nm, respectivamente). Véase en la **Sección 11** los modelos de equipos para los que se validó el kit.
- Equipos y consumibles para el aislamiento de ADN de muestras biológicas/clínicas.
- Material de plástico de qPCR libre de ARNasa/ADNasa: Tubos de PCR, tiras, tapas, placas de 96 pocillos, películas adhesivas.
- Pipetas y puntas con filtro (sin RNasa/DNasa).
- Bloque de enfriamiento
- Guantes desechables.
- Vortex y centrífuga.

7. Recolección y preparación de muestras

El Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, está diseñado para detectar el ADN extraído de muestras de hisopos nasales. Las muestras nasales deben recolectarse de ambas fosas nasales, una a la vez, usando un hisopo único (ESwab®, Copan). Coloque el hisopo en el tubo de transporte que contiene el medio de transporte Líquido Amies. La recolección debe realizarse en tubos estériles. Las muestras deben sellarse herméticamente en tubos o envases adecuados, etiquetarse correctamente y luego transportarse rápidamente al laboratorio. Las muestras recolectadas deben analizarse lo antes posible. La recolección, la manipulación y/o el transporte inadecuado de las muestras pueden causar un resultado falso. Los ácidos nucleicos extraídos constituyen el material de partida para la prueba con el Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTech. NZYTech recomienda el uso del kit de aislamiento NZY Mag Viral RNA/DNA, IVD (MD0488, NZYTech) para la extracción de ácidos nucleicos, ya que este kit ha sido validado para la extracción de muestras clínicas de MRSA. Asegúrese de que las muestras de ADN sean idóneas en términos de pureza, concentración e integridad del ácido

nucleico. Dado que el etanol es un fuerte inhibidor de la PCR en tiempo real, es necesario eliminar este componente antes de la elución de los ácidos nucleicos durante el proceso de extracción. El kit de NZYTech contiene un control interno que apunta al ADN humano copurificado con el ADN del MRSA bacteriano. El ADN humano se amplifica con el conjunto de oligonucleótidos (cebadores y sonda) del gen de la RP humana. La introducción del control interno es útil para evaluar la eficacia de la extracción y el aislamiento del ADN y/o para detectar la presencia de posibles inhibidores durante el procesamiento de la muestra.

8. Precauciones y Advertencias

Siga cuidadosamente los procedimientos y las guías que se proporcionan en este manual para asegurarse de que la prueba se realice correctamente. Antes de usar la prueba, verifique la integridad del producto, es decir, la cantidad y el tipo de componentes del kit y su correcto etiquetado. Como en cualquier procedimiento de prueba analítica, las buenas prácticas de laboratorio son esenciales. Cualquier desviación de ellas puede resultar en una falla de la prueba o causar resultados erróneos. Debido a la alta sensibilidad del kit, se debe tener especial cuidado para mantener los reactivos y las mezclas de amplificación de PCR libres de contaminación.

8.1 Información de seguridad

Antes de usar el kit, consulte la Ficha de Datos de Seguridad (FDS) que está disponible en el sitio web de NZYTech (www.nzytech.com). La detección de este kit la debe llevar a cabo únicamente el personal capacitado en los procedimientos técnicos y de seguridad pertinentes en laboratorios debidamente equipados. Se deben seguir las guías internacionales y nacionales sobre bioseguridad en el laboratorio en todas las circunstancias.

8.2 Requisitos de manipulación y procedimiento

- Solo para uso diagnóstico *in vitro* profesional
- No use este kit después de la fecha de caducidad.
- No utilice los componentes de prueba si el sellado del kit está dañado.
- No intercambie reactivos de diferentes lotes de producción.
- No se deben utilizar reactivos de otros fabricantes junto con los reactivos de este kit de prueba.
- En todos los procedimientos se deben utilizar pipetas y recipientes de plástico desechables libres de ADNasa/RNasa.
- La preparación de muestras, la configuración de la reacción y la amplificación deben realizarse en diferentes áreas de trabajo. El orden de las tareas en el laboratorio debe ser unidireccional. Siempre use guantes desechables en cada área y cámbielos antes de ingresar a un área diferente. Si es posible, cámbiate de abrigo.
- Seleccione materiales y equipos específicos para cada área de trabajo individual y no los transfiera de un área a otra.
- Utilice siempre el NTC - Control sin plantilla proporcionado en el kit.
- Las muestras biológicas deben manipularse como si fueran infecciosas siguiendo las precauciones de bioseguridad adecuadas.
- Los controles positivos contienen plantillas con un alto número de copias; deben abrirse y procesarse lejos de las muestras de prueba y los componentes del kit para evitar la contaminación cruzada.

- Manipule las placas postamplificación con cuidado y elimínelas inmediatamente después del final de la prueba; las placas siempre deben desecharse en un contenedor de riesgo biológico adecuado después de su uso. No abra los tubos/placas de reacción posteriores a la amplificación para evitar la contaminación por amplicón.
- Al final de cada prueba, limpie las superficies de trabajo y el equipo con un removedor de ADN/ARN.
- Los residuos de productos químicos y preparados se consideran generalmente como residuos peligrosos. La eliminación de este tipo de residuos está regulada por leyes y reglamentos nacionales y regionales.
- Todos los resultados deben ser interpretados por un profesional de la salud en el contexto del historial médico y los síntomas clínicos del paciente.
- Esta prueba no puede excluir enfermedades causadas por otros patógenos.
- Un resultado negativo para cualquier prueba de PCR no descarta de manera concluyente la posibilidad de infección.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio, use ropa protectora, use permanentemente guantes desechables sin talco, use gafas de protección y mascarillas. No coma, beba ni fume en el área de trabajo.

9. Procedimiento de prueba

Lea atentamente las instrucciones de uso antes de realizar la prueba. Tenga en cuenta que todos los pasos de pipeteo y la configuración de la placa experimental deben realizarse siguiendo las buenas prácticas de qPCR. Después del vertido en la placa, inicie inmediatamente el protocolo de qPCR. La incubación prolongada de mezclas de reacción a temperatura ambiente puede provocar artefactos de PCR que reducen la sensibilidad de detección. Antes del experimento, comience mezclando suavemente los tubos de reacción proporcionados con el dedo y centrifugue durante cinco segundos para recolectar el contenido en el fondo del tubo. Coloque los tubos en hielo. **Recomendamos encarecidamente pipetear el MRSA POS 1 y MRSA POS 2 en último lugar para evitar contaminaciones cruzadas.**

9.1 Configuración de la reacción

1. Prepare una mezcla de qPCR suficiente para el número de pruebas que se van a realizar con un volumen adicional del 5 % para las pérdidas por pipeteo. Proceda de acuerdo con la tabla a continuación que especifica los volúmenes para 1 y *n* pruebas (donde *n* corresponde al número total de reacciones):

Componente	**1 volumen de prueba (µL)**	***n* pruebas* volumen + 5% (µL)**
MRSA MMix **	10	*n* x 10,5
MRSA PPMix	2	*n* x 2,1
Volumen final	**12**	***n* x 12,6**

** Para calcular el número total de reacciones necesarias para cada prueba, cuente el número de muestras y agregue tres más para el control Negativo y los dos controles Positivos, respectivamente.*

*** Tenga en cuenta que se puede observar un precipitado en el fondo del tubo de la mezcla maestra, en particular después de varios ciclos de congelación/descongelación. Para garantizar un rendimiento óptimo, asegúrese de que todos los componentes estén descongelados y resuspendidos antes de su uso. En este caso, no haga girar la mezcla maestra antes de pipetear.*

2. Pipetee 12 µL de la mezcla de qPCR en pocillos individuales de acuerdo con la configuración de su placa experimental de PCR en tiempo real.

3. Para el control negativo, agregue 8 µL de NTC en lugar de la plantilla de ADN en el pocillo de control negativo. El volumen final debe ser de 20 µL.

4. Para las muestras biológicas, agregue 8 µL de cada muestra de ADN en los pocillos de muestra, de acuerdo con la configuración de su placa experimental. El volumen final en cada pocillo debe ser de 20 µL.

5. Para los dos controles positivos, agregue 8 µL de MRSA POS 1 y 8 µL de MRSA POS 2 en lugar de la plantilla de ADN en los pocillos de control positivo. El volumen final debe ser de 20 µL.

6. Cubra y selle la placa con una película o tapas adhesivas ópticas idóneas antes de continuar con los pasos de qPCR y detección.

7. Coloque la placa de reacción en el instrumento de PCR en tiempo real y ejecute el protocolo qPCR de acuerdo con la sección a continuación.

9.2 Programación del instrumento de PCR en tiempo real

La siguiente tabla muestra un protocolo estándar optimizado en algunas plataformas. Sin embargo, estas condiciones pueden adaptarse y validarse para ajustarse a diferentes protocolos específicos de la máquina.

Ciclos	Temperatura	Tiempo	Paso
1	95 °C	5 min	*Activación de la polimerasa*
45	95 °C	10 s	*Desnaturalización*
	60 °C	30 s	*Recocido/Extensión**

** Según el equipo de qPCR, seleccione los canales de detección apropiados. Los datos fluorogénicos deben recopilarse durante este paso a través de los canales FAM, HEX/VIC/JOE, Texas Red/JUN y Cy5.*

Los colorantes fluorescentes utilizados en este kit y sus correspondientes canales de detección son los siguientes:

Colorantes fluorescentes y canales de detección

Dianas	Colorante fluorescente	Canales de detección
mecA/mecC	FAM™	FAM
Unión SCCmec/orfX	HEX™	HEX/VIC/JOE
nuc	Texas Red®	Texas Red/JUN

RNaseP	Cy5™	Cy5
MRSA POS 1	FAM™ & HEX™ & Texas Red® & Cy5™	FAM & HEX/VIC/JOE & Texas Red/JUN Cy5
MRSA POS 2	FAM™ & HEX™ & Texas Red® & Cy5™	FAM & HEX/VIC/JOE & Texas Red/JUN & Cy5

El Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTech, fue validado para los siguientes sistemas de PCR en tiempo real: Applied Biosystems™ 7500 FAST, Applied Biosystems™ QuantStudio 5, Roche Lightcycler® 96 Instrument, Bio-Rad® CFX 96 e Bio-Rad® CFX Opus. Si se utiliza otro equipo, el kit debe ser validado por el usuario utilizando muestras previamente caracterizadas (tanto positivas como negativas).

10. Análisis de los datos

10.1 Ejecutar criterios de validación

Antes de analizar los resultados, recomendamos consultar el manual de usuario del dispositivo qPCR respectivo. Luego verifique si la prueba de PCR en tiempo real es válida. Por lo tanto, para cada placa, confirme si los resultados de los controles Positivo y Negativo se realizaron como se esperaba, de acuerdo con los siguientes criterios:

- **Control negativo (sin reacción de plantilla):** no se detecta amplificación. Puede haber ocurrido contaminación de la muestra si el control negativo tiene curvas de amplificación (FAM, HEX/VIC/JOE, Texas Red/JUN y Cy5) con forma sigmoidal. Repita la prueba siguiendo buenas prácticas de qPCR.

- **Control positivo 1 (MRSA POS 1):** las curvas de amplificación de FAM (mecA), HEX (*SCCmec/orfX* junction), Texas Red/JUN (*nuc*) y Cy5 (RP) son positivas. Se espera que el control positivo amplifique a Ct<32, en los cuatro canales. El incumplimiento de este criterio de control de calidad es una fuerte indicación de que el experimento se ha visto comprometido.

- **Control positivo 2 (MRSA POS 2):** las curvas de amplificación de FAM (*mecC*), HEX (SCC*mec/orfX* junction), Texas Red/JUN (*nuc*) y Cy5 (RP) son positivas. Se espera que el control positivo amplifique a Ct<32, en los cuatro canales. El incumplimiento de este criterio de control de calidad es una fuerte indicación de que el experimento se ha visto comprometido.

Si los controles están de acuerdo con lo esperado, la prueba es **válida**. Continúe con la interpretación de los resultados de las muestras analizadas.

Si alguno de los controles no muestra el rendimiento esperado, la prueba se vio comprometida o se ejecutó incorrectamente y debe considerarse **inválida**.
Por favor, repita la prueba. Si el problema persiste, póngase en contacto con el fabricante.

10.2 Interpretación de los resultados de la prueba

El Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD de NZYTech usa los siguientes valores de Ct de corte para la interpretación de los resultados:

Valor Ct	Interpretación de los resultados
Ct ≤37	Detectado (+) → **POSITIVO**
Ct >37	No Detectado (-) → **NEGATIVO**

MRSA se detecta si las curvas de amplificación FAM (*mec*A/*mec*C), HEX/VIC/JOE (unión SCC*mec/orfX*) y Texas Red/JUN (*nuc*) muestran una forma sigmoidal con un Ct≤37, independientemente del resultado obtenido para el ensayo RP (Cy5) (en este caso, la presencia o ausencia de una señal en el canal Cy5 no es significativa para la validez del análisis procesado).

MRSA no se detecta si las curvas FAM (*mecA/mecC*) y/o HEX/VIC/JOE (SCC*mec/orf*X junction) y/o Texas Red/JUN (nuc) no se amplifican o se amplifican en Ct>37, mientras que el ensayo RP (Cy5) muestra una curva sigmoidal positiva (Ct≤45)

La prueba no es válida si las tres curvas de amplificación de MRSA, así como la curva de amplificación de RP, son negativas. La prueba debe repetirse con ácido nucleico repurificado de la muestra.

La siguiente tabla resume la interpretación de los principales resultados (evaluar la forma general de las curvas de amplificación; **solo las curvas de amplificación sigmoidales son indicativas de una amplificación real**).

mecA/mecC (FAM)	**SCC*mec/orfX*** (HEX/VIC/JOE)	***nuc*** (TexasRed/JUN)	**RP**[1] (Cy5)	**Control negativo**	**Controles positivos**	**Interpretación de los resultados**
+	+	+	+/-	-	+	**MRSA → POSITIVO** [2]
+	-	+	+/-	-	+	**MRSA → NEGATIVO** [3]
-	+	+	+/-	-	+	**MRSA → NEGATIVO**
-	-	+	+/-	-	+	**MRSA → NEGATIVO**
+	-	-	+/-	-	+	**MRSA → NEGATIVO** [4]
-	+	-	+/-	-	+	**MRSA → NEGATIVO**
+	+	-	+/-	-	+	**MRSA → NEGATIVO**
-	-	-	+	-	+	**MRSA → NEGATIVO**
-	-	-	-	-	+	**PRUEBA INVÁLIDA**[5]

[1] *Una alta concentración/carga de ADN de MRSA detectable en la muestra puede conducir a una señal de control interno reducida o ausente en el canal Cy5 (+: curva de amplificación detectada; -: sin curva de amplificación).*
[2] *MRSA: S. aureus resistente a la metilicina.*
[3] *En presencia de una variante de MRSA nueva o desconocida, el canal HEX/VIC/JOE puede ser negativo.*
[4] *MRCoNs: Staphylococcus coagulasa negativo resistente a meticilina/oxicilina.*
[5] *Repita la extracción de ADN y vuelva a ejecutar la prueba qPCR.*

Nota: La interpretación de los resultados debe tener en cuenta la posibilidad de resultados falsos negativos y falsos positivos.

• Los resultados falsos negativos pueden deberse a:
- Recolección, manipulación y/o almacenamiento inadecuado de las muestras.
- Degradación de la muestra.
- Presencia de inhibidores de qPCR.
- Mutaciones en el genoma del agente patógeno; falla en la detección de variantes nuevas o desconocidas.
- Incumplimiento de los procedimientos de este manual.
- Uso de kit de extracción o plataforma de PCR en tiempo real no autorizados.

• Los resultados falsos positivos pueden deberse a:
- Muestra que contiene una mezcla de múltiples patógenos comensales.
- Dada la evidencia del gen de resistencia, puede existir una infección mixta de MSSA (*S. aureus* sensible a la meticilina) y CoNS (estafilococos coagulados negativos).
- Contaminación cruzada con los controles positivos por su manipulación inadecuada.
- Manipulación inadecuada de muestras que contienen alta concentración de ADN de MRSA. Debido a la alta susceptibilidad del método qPCR a las contaminaciones cruzadas, se debe tener especial cuidado durante el aislamiento del ADN.
- Manipulación inadecuada del producto amplificado (placa de postamplificación de qPCR).

Los resultados negativos no excluyen la infección por MRSA y el resultado de la prueba no debe utilizarse como la única base para el tratamiento u otras decisiones de manejo del paciente. Además, esta prueba no puede descartar enfermedades causadas por otros patógenos bacterianos.

11. Evaluación del desempeño

El desempeño de este kit fue validado para los equipos especificados en la **Sección 9.2** (véase anteriormente). Si se utiliza otro equipo, el kit debe ser validado por el usuario utilizando muestras previamente caracterizadas (tanto positivas como negativas).

11.1 Resultados previstos

A continuación, se presentan los gráficos de amplificación típicos, observados para una muestra clínica de hisopo nasal negativo para MRSA (Figura 1A) y de una muestra de hisopo nasal de un paciente identificado como portador de MRSA (Figura 1B):

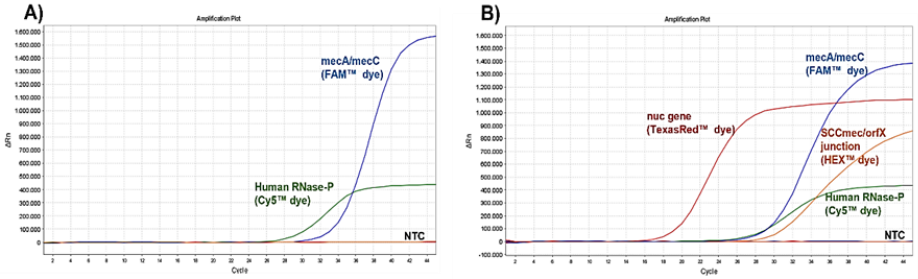

Figura 1. Detección de curvas de fluorescencia de unión *mecA/mecC*, *nuc*, SCC*mec/orfX* generadas por el Kit de PCR en tiempo real Pentaplex para MRSA, IVD, en muestras clínicas de hisopo nasal negativas para MRSA que contienen los genes *mec*A y/o *mec*C (Figura 1A) y una muestra de hisopo nasal de un paciente identificado como portador de MRSA (Figura 1B). Curva azul: detección de ADN que alberga objetivos *mec*A/*mec*C a través del canal FAM; Curva roja: detección de ADN que alberga el objetivo nuc a través del canal TexasRed/JUN; Curva naranja: detección de un ADN que alberga el objetivo de la unión SCC*mec/orf*X a través del canal VIC/HEX/JOE; Curva verde: detección de un ADN que alberga el objetivo RP humano a través del canal Cy5.

11.2 Límite de detección (LdD) - Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica se definió como la concentración más baja del analito que podía detectarse de forma fiable con un 95 % de confianza. Esto se evaluó mediante pruebas de ácidos nucleicos de MRSA en diferentes números de copias, agregados al ADN extraído de muestras de hisopo nasal negativas, analizadas en 48 réplicas por concentración, por 2 diferentes operadores, utilizando 3 lotes de kits diferentes siguiendo las condiciones de reacción de prueba típicas. Las pruebas se repitieron a lo largo de 4 días. Juntos, los datos revelaron que el Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD de NZYTech detecta 0,15 copias/µL de *mec*A, *mec*C, *nuc* y SCC*mec/orf*X con una confianza de ≥95%. Por lo tanto, se determinó que el Límite de Detección (LdD) tentativo es de 150 copias/mL para MRSA. Todas las pruebas se realizaron con el equipo Applied Biosystem® 7500 FAST Real Time PCR y el análisis se realizó con el software del equipo.

11.3 Especificidad Analítica

11.3.1 Reactividad Cruzada (Exclusión) y Especificidad

La reactividad cruzada y la inclusividad se evaluaron *in silico* mediante el análisis de todas las sondas y cebadores de oligonucleótidos incluidos en el kit contra patógenos relacionados con MRSA y patógenos normales que causan infecciones con síntomas similares, respectivamente. Los cebadores y las sondas de prueba se examinaron frente a las secuencias genómicas publicadas. Mediante los análisis *in silico*, se encontró que el diseño de la prueba para detectar específicamente MRSA y no mostró reactividad con especies no relacionadas.

La reactividad cruzada del kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA de NZYTech, IVD, se evaluó más *in vitro* mediante la prueba de un panel que constaba de aislamientos bien caracterizados de *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina (MSSA), estafilococos coagulasa negativos (CoNS), géneros estrechamente relacionados y otra flora patógena y comensal que se encuentra en las fosas nasales. La reactividad cruzada *in vitro* del Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, se evaluó utilizando los siguientes patógenos: *Bacteroides ovatus, Bacteroides thetaiotaomicron, Burkholderia vietnamiensis, Dickeya dadantii, Enterobacter*

cloacae, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium intracellulare, Mycobacterium mageritense, Mycobacterium smegmatis, Nocardia nova, Pseudomonas mendocina, Streptococcus mutans, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Streptomyces avermitilis y *Streptomyces albidoflavus.* Los ensayos se llevaron a cabo utilizando muestras nasales negativas enriquecidas con ADN genómico de los organismos mencionados anteriormente. Además, se realizaron pruebas húmedas utilizando seis muestras inactivas que son representativas de especímenes clínicas humanos verdaderas, incluidos *S. aure*us (cepa comunitaria de MRSA), *S. aureus* (cepa comunitaria de MRSA), *S. aureu*s (*mec*C), *S. aureus* (Casete vacío de MSSA), *S. aureus* (MSSA) y *Staphylococcus epidermidis* (MSSE HER 1292) que es un CoNS (Zeptometrix). Todas las pruebas se realizaron por triplicado utilizando tres lotes de kits. Las muestras se extrajeron por duplicado utilizando el sistema de purificación Thermo Scientific KingFisher Flex con el kit de aislamiento de ARN/ADN viral NZY Mag de NZYTech, IVD (MD04881), y se evaluaron en Applied Biosystems® 7500 FAST. Ninguno de los patógenos analizados arrojó una señal de qPCR falso positiva.

11.3.2 Sustancias que interfieren

Se evaluó el impacto de 26 sustancias potencialmente interferentes que se usan ocasionalmente en las fosas nasales o que se encuentran en muestras de hisopos nasales para detectar posibles interferencias con el kit de PCR en tiempo real Múltiplex para MRSA, IVD. Los ensayos se realizaron utilizando muestras nasales negativas enriquecidas con muestras positivas de MRSA a ~2-3x LoD. Se añadieron sustancias potencialmente interferentes a las muestras artificiales en concentraciones que representan los niveles más altos esperados en muestras de pacientes respiratorios humanos según los datos de la literatura. El experimento se realizó durante tres días. Todas las pruebas se realizaron por duplicado usando un lote de kit y se compararon con los datos obtenidos con una prueba de control que no contenía interferencias. A las concentraciones probadas, los resultados revelaron que ninguna de las moléculas bajo prueba afectó la sensibilidad de la detección. La siguiente tabla resume los datos recopilados en estos experimentos. Los datos revelaron que ninguna de las sustancias analizadas interfirió con la sensibilidad de detección de MRSA por el Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD.

Potencial interferente	Ingredientes activos	Concentración final en la muestra	Interferencia Sí (S) o No (N)
Rhinomer® (Agua de mar isotónica)	Agua de mar	10% v/v	N
Strepfen® (spray para la garganta, anestésico oral y analgésico)	Flurbiprofén	5% v/v	N
Vibrocil® (solución de lavado nasal; aerosol para alergias)	Propionato de fluticasona	5% v/v	N
Nasomet® (spray de corticosteroides nasales)	Furoato de mometasona	5% v/v	N
Pulmicort® (spray de corticosteroides nasales)	Budesonida	5% v/v	N
Trobex® (antimicrobiano, sistémico)	Trobamicina	10 µg/mL	N
Pyralvex® (analgésico bucal, antiinflamatorio y antiséptico)	Extracto de ruibardo, ácido salicílico	5% v/v	N
Eludril Gé (Solución colutoria antiséptica)	Gluconato de clorhexidina, hemihidrato de clorobutanol	5% v/v	N
Isophy® (suero fisiológico)	NaCl al 0,9 %	10%	N
Saliva (humana)	-	25% v/v	N
Mucosolvan® (Mucolítico)	Clorhidrato de ambroxol	5% v/v	N

Sangre entera (humana)	-	4% v/v	N
Bactroban® (Antibiótico, pomada nasal)	Mupirocina	5 mg/mL	N
Moco nasal (mucina)	Moco (humano)	25% v/v	N
Allergodil® (solución de aerosol nasal)	Clorhidrato de azelastina	5% v/v	N
Aeromax nasal® (Solución de lavado nasal)	Budesonida	10% v/v	N
Avamys® (solución de lavado nasal)	Furoato de fluticasona	10% v/v	N
Bisolspray Nebulicina® (Solución de lavado nasal)	Clorhidrato de oximetazolina	10% v/v	N
Mometasona Generis® (Solución de lavado nasal)	Mometasona	5% v/v	N
Nasorhinathiol® (Solución de lavado nasal	Clorhidrato de oximetazolina	10% v/v	N
Rhinomer intense Eucalyptus® (solución de lavado nasal)	agua de mar hipertónica con aceite esencial de eucalipto	10% v/v	N
Vibrocil Actilong® (Solución de lavado nasal)	Clorhidrato de xilometazolina	10% v/v	N
Tamiflu® (medicamento antiviral)	Oseltamivir	5% v/v	N
Neo-Sinefrina® (Solución de lavado nasal)	Clorhidrato de fenilefrina	10% v/v	N
Neo-Sinefrina Alergo® (Solución de lavado nasal)	Dipropionato de beclometasona	10% v/v	N
Predniftalmina® (Pomada Oftálmica)	Prednisolona y cloranfenicol	10% v/v	N
Control sin ninguna sustancia interferente	H_2O	5% v/v	N

11.4 Precisión

La precisión de la prueba para el Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTech, fuedeterminada por la prueba repetida de muestras positivas que representan dos niveles de carga de patógenos, 3x LoD y 30x LoD copias por reacción, añadidas al ADN extraído de muestras de hisopo nasales negativas, usando 3 lotes de kits diferentes y siguiendo las condiciones típicas de reacción de prueba. La precisión se evaluó midiendo el promedio de Cq, el coeficiente de variación de Cq y el % de detección de réplicas, como se describe a continuación para cada caso. Los datos se resumen en las tablas que se muestran a continuación.

Precisión del kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA de NZYTech, IVD, mientras detecta el gen objetivo *mec*A

Variable probada		***mec*A (Copias/Reacción)**	
		3x LdD	**30x LdD**
Repetibilidad	n	18	18
	Promedio de Cq	35,77	32,88
	Coeficiente de variación (%)	2,01	1,19
	% de detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad diaria	n	72	72
	Promedio de Cq	36,05	33,04
	Coeficiente de variación (%)	2,56	1,22
	% de detección de réplicas	98,61	100
Lote a lote Reproducibilidad	n	126	126
	Promedio de Cq	36,07	33,06
	Coeficiente de variación (%)	2,14	1,10
	% de detección de réplicas	99,21	100
Operador Reproducibilidad	n	36	36
	Promedio de Cq	36,35	33,18
	Coeficiente de variación (%)	1,51	1,14
	% de detección de réplicas	100	100

Reproducibilidad entre instrumentos	n	90	90
Reproducibilidad	Promedio de Cq	35,93	32,92
	Coeficiente de variación (%)	2,19	1,23
	% de detección de réplicas	100	100

Precisión del kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA de NZYTech, IVD, mientras detecta el gen objetivo *mecC*

Variable probada		***mecC* (Copias/Reacción)**	
		3x LdD	**30x LdD**
Repetibilidad	n	18	18
	Promedio de Cq	35,56	33,02
	Coeficiente de variación (%)	2,57	0,95
	% de detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad diaria	n	72	72
	Promedio de Cq	35,68	33,07
	Coeficiente de variación (%)	2,54	1,40
	% de detección de réplicas	97,22	100
Lote a lote Reproducibilidad	n	126	126
	Promedio de Cq	35,88	33,17
	Coeficiente de variación (%)	2,53	1,40
	% de detección de réplicas	97,62	100
Operador Reproducibilidad	n	36	36
	Promedio de Cq	36,25	33,33
	Coeficiente de variación (%)	2,10	1,62
	% de detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad entre instrumentos Reproducibilidad	n	90	90
	Promedio de Cq	35,80	32,91
	Coeficiente de variación (%)	2,41	1,24
	% de detección de réplicas	98,89	100

Precisión del kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA de NZYTech, IVD, mientras detecta el gen objetivo *específico de S. aureus nuc*

Variable probada		***nuc* (Copias/Reacción)**	
		3x LdD	**30x LdD**
Repetibilidad	n	18	18
	Promedio de Cq	35,63	32,76
	Coeficiente de variación (%)	2,03	1,09
	% de detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad diaria	n	72	72
	Promedio de Cq	35,68	32,88
	Coeficiente de variación (%)	2,29	1,41
	% de detección de réplicas	100	100
Lote a lote Reproducibilidad	n	126	126
	Promedio de Cq	35,96	32,99

	Coeficiente de variación (%)	2,48	1,44
	% de detección de réplicas	100	100
Operador Reproducibilidad	n	36	36
	Promedio de Cq	36,28	33,22
	Coeficiente de variación (%)	2,33	1,32
	% de detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad entre instrumentos Reproducibilidad	n	90	90
	Promedio de Cq	35,63	32,65
	Coeficiente de variación (%)	2,36	1,23
	% de detección de réplicas	100	100

Precisión del kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA de NZYTech, IVD, mientras detecta el objetivo de unión SCC*mec*/*orfX*

Variable probada		**Unión SCC*mec*/*orfX***	
		3x LdD	**30x LdD**
Repetibilidad	n	18	18
	Promedio de Cq	36,09	33,27
	Coeficiente de variación (%)	1,44	0,77
	% de detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad diaria	n	72	72
	Promedio de Cq	36,25	33,33
	Coeficiente de variación (%)	2,04	1,16
	% de detección de réplicas	100	100
Lote a lote Reproducibilidad	n	126	126
	Promedio de Cq	36,33	33,36
	Coeficiente de variación (%)	1,96	1,18
	% de detección de réplicas	100	100
Operador Reproducibilidad	n	36	36
	Promedio de Cq	36,54	3,39
	Coeficiente de variación (%)	1,82	1,09
	% de detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad entre instrumentos Reproducibilidad	n	90	90
	Promedio de Cq	35,26	32,18
	Coeficiente de variación (%)	4,03	3,89
	% de detección de réplicas	100	100

11.4.2 Repetibilidad

La repetibilidad fue evaluada por un operador mediante el análisis de 18 réplicas de cada muestra (3x LdD y 30x LdD copias por reacción), lo que representa un número final de 36 pruebas realizadas por diana.

11.4.3 Reproducibilidad diaria

Un operador evaluó la reproducibilidad diaria analizando 72 réplicas de cada muestra (3x LdD y 30x LdD copias por reacción), durante 4 días, con 18 réplicas de cada concentración por día (se realizó un total de 144 ensayos por diana).

11.4.4 Reproducibilidad lote a lote

Un operador evaluó la reproducibilidad entre lotes mediante el análisis de 126 réplicas de cada muestra (3x LdD y 30x LdD copias por reacción) utilizando 3 lotes de kits diferentes con 84 réplicas por lote.

11.4.5 Reproducibilidad entre operadores

La reproducibilidad entre operadores se evaluó mediante la prueba de 36 réplicas de cada muestra (3x LoD y 30x LoD copias por reacción), por tres operadores diferentes con 12 repeticiones por operador, totalizando 24 repeticiones por operador, usando 3 lotes de kit diferentes.

11.4.6 Reproducibilidad entre instrumentos

Un operador midió la reproducibilidad entre instrumentos mediante la prueba de 90 réplicas de cada muestra (3x LoD y 30x LoD copias por reacción), en cinco instrumentos de qPCR diferentes, totalizando 36 pruebas por equipo.

Fabricante del equipo PCR en tiempo real	Modelo de plataforma PCR en tiempo real
Applied Biosystem®	7500 Fast
	QuantStudio™ 5
Roche®	LightCycler™ 96 instrument
Bio-Rad®	CFX Opus 96 Real-Time PCR
	CFX96 Touch Real-Time PCR

11.5 Evaluación clínica

El rendimiento clínico del kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTech se evaluó utilizando 157 muestras de hisopos nasales caracterizadas previamente mediante cultivo microbiológico de rutina. Los datos revelaron que se lograron concordancias del 100% de sensibilidad clínica (PPA) y del 72,7% de especificidad clínica (NPA) para todas las muestras positivas y negativas analizadas. En general, los resultados muestran una alta sensibilidad y especificidad para detectar MRSA utilizando el kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD de NZYTech.

		Ensayo comparador		
		MRSA Positivo	MRSA Negativo	Total
Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD	MRSA Positivo	58	27*	85
	MRSA Negativo	0	72	72
	Total	58	99	157

PPA (concordancia de porcentual positiva): 100,0 % para MRSA
NPA (concordancia de porcentual negativa): 72,7 % para MRSA

* Una posible explicación para esas muestras de cultivo negativas es la pérdida de viabilidad bacteriana durante la recolección y/o el transporte de muestras, donde el ADN bacteriano no viable permaneció disponible para la amplificación. Además, esta diferencia puede justificarse por el hecho de que la técnica qPCR es más sensible que los métodos de cultivo.

12. Control de calidad

Todos los componentes del Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD, de NZYTech, se prueban siguiendo los protocolos descritos anteriormente. El sistema de PCR en tiempo real pentaplex permite la detección de objetivos descritos para la identificación de ADN de MRSA y ADN de RNasa P humana. Se observan amplificaciones positivas para los genes objetivo, el control positivo y los controles internos a través de los canales Texas Red/JUN, FAM, HEX/VIC/JOE y Cy5, según los colorantes indicadores del conjunto de cebadores/sonda respectivos.

13. Apoyo técnico

Para soporte técnico, comuníquese con nuestro equipo de soporte técnico dedicado por teléfono: +351 (0) 21 364 35 14 o correo electrónico: info@nzytech.com.

14. Marcas registradas y descargos de responsabilidad

Todas las marcas registradas que aparecen en este manual son propiedad de sus respectivos dueños.

15. Explicación de los símbolos

IVD	Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*		Consultar instrucciones de uso
REF	Número de catálogo		Fabricante
LOT	Código de lote		Usar por
	Limitación de temperatura		Suficiente para
CONTROL +	Control positivo		Mantener alejado de la luz solar (mezcla de cebador/sonda)
CONTROL –	Control negativo		

16. Declaración de conformidad

Nombre del producto: Kit de PCR en tiempo real Multiplex para MRSA, IVD

Número de catálogo: MD04931

Uso previsto: Detección cualitativa de MRSA

Fabricante: NZYTech - Genes & Enzymes,

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar

Edifício E, R/C,

1649-038, Lisboa

Portugal

Nosotros, NZYTech, Lda – Genes & Enzymes, declaramos que este producto, al que se refiere esta declaración de conformidad, cumple con la siguiente norma y otros documentos normativos ISO 9001:2015, siguiendo las disposiciones de la Directiva 98/79/CE Directiva sobre dispositivos médicos *in vitro* transpuestos a las leyes nacionales de los Estados miembros de la Unión Europea.

El archivo técnico del producto se mantiene en NZYTech, Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal.

Dra. Joana Brás

Directora técnica

17. Referencias

Wertheim, H. F. et al. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect. Dis. 5, 751–762.

Van Belkum A, Rochas O (2018) Laboratory based and point-of-care testing for MSSA/MRSA detection in the age of whole genome sequencing. Front Microbiol 9:1437. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01437

Faoagali, J. L. et al. (1992). Ten years' experience with methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a large Australian hospital. J. Hosp. Infect. 20, 113-119.

Voss, A. et al. (2005). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in pig farming. Emerg. Infect. Dis. 11, 1965-1966.

World Health Organization. (2009) WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care. World Alliance for Patient Safety (WHO Press, Geneva).

Lee, A. et al. (2018). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Nat Rev Dis Primers 4, 18033. https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33

Jonas D, et al. (2002). Rapid PCR-based identification of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from screening swabs. J Clin Microbiol. 40(5):1821-3.

International Working Group on the Staphylococcal Cassette Chromosome elements (2011). http://www.sccmec.org/Pages/SCC_HomeEN.html.

Meng, X et al. (2020). Rapid Detection of *mecA* and femA Genes by Loop-Mediated Isothermal Amplification in a Microfluidic System for Discrimination of Different Staphylococcal Species and Prediction of Methicillin Resistance. Frontiers in microbiology. 11. Jg.

Dupieux C., et al. (2017). Detection of *mecC* -positive Staphylococcus aureus: what to expect from immunological tests targeting PBP2a? J Clin Microbiol 55(6):1961–1963.

Padmanabhan RA, Fraser TG. (2005). The emergence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in the community. Cleveland Clinic J Med. 72(3):235-241.

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal
Tel.:+351.213643514 Fax: +351.217151168
www.nzytech.com