

cobas[®] **MRSA/SA Test**

para uso en el cobas[®] **4800 System**

Para diagnóstico *in vitro*



| | | |
|---|------------------------|------------------------------------|
| cobas [®] 4800 System Sample Preparation Kit | 240 Tests 960 Tests | P/N 05235782190 P/N 05235804190 |
| cobas [®] 4800 System Lysis Kit 1 | 240 Tests 960 Tests | P/N 06768253190 P/N 06768270190 |
| cobas [®] 4800 System Wash Buffer Kit | 240 Tests 960 Tests | P/N 05235863190 P/N 05235871190 |
| cobas [®] 4800 System Internal Control Kit 1 | 20 Runs | P/N 06768318190 |
| cobas [®] 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit | 80 Tests 240 Tests | P/N 06768113190 P/N 06768172190 |
| cobas [®] 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit | 10 Runs | P/N 06768288190 |

TABLA DE CONTENIDO

Uso previsto

Resumen y explicación de la prueba/Principio del ensayo

| | |
|---|---|
| Antecedentes: cribado de MRSA y SA..... | 4 |
| Explicación de la prueba..... | 5 |
| Principios del ensayo | 5 |
| Preparación de las muestras..... | 5 |
| Amplificación mediante PCR y detección mediante TaqMan® | 5 |
| Amplificación selectiva..... | 5 |

Materiales, reactivos y muestras

| | |
|---|----|
| Materiales y reactivos suministrados..... | 7 |
| Almacenamiento y manipulación de los reactivos | 9 |
| Material adicional necesario | 15 |
| Material opcional..... | 15 |
| Equipos y programas necesarios pero no suministrados..... | 15 |

Precauciones y requisitos de manipulación

| | |
|---|----|
| Advertencias y precauciones..... | 16 |
| Prácticas de laboratorio recomendadas..... | 16 |
| Contaminación | 17 |
| Integridad | 17 |
| Eliminación de residuos | 17 |
| Limpieza de derrames..... | 17 |
| Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras..... | 18 |
| Obtención de las muestras | 18 |
| Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte..... | 18 |

Instrucciones de uso

| | |
|-------------------------------|----|
| Realización de la prueba..... | 19 |
| Flujo de trabajo..... | 19 |
| Procedimiento analítico | 19 |

Resultados

| | |
|---|----|
| Control de calidad y validez de los resultados..... | 24 |
| Control positivo..... | 24 |
| Control negativo..... | 24 |
| Control interno..... | 24 |
| Interpretación de los resultados | 25 |
| Lista de avisos de resultados | 27 |

| | |
|---|----|
| Cultivo de muestras clínicas | 27 |
| Limitaciones del procedimiento..... | 28 |
| Evaluación no clínica del rendimiento | |
| Sensibilidad analítica | 30 |
| Detección de los genotipos de MRSA y SA..... | 30 |
| Inclusividad geográfica..... | 32 |
| Precisión | 33 |
| Inhibición competitiva | 34 |
| Especificidad analítica..... | 35 |
| Interferencia..... | 38 |
| Rendimiento clínico con muestras clínicas | 39 |
| Resultados de reproducibilidad para MRSA | 41 |
| Resultados de reproducibilidad para SA..... | 43 |
| Rendimiento clínico..... | 45 |
| Resultados..... | 45 |
| Valores esperados..... | 48 |
| Información adicional | |
| Características principales del ensayo | 50 |
| Símbolos | 51 |
| Asistencia técnica | 52 |
| Fabricante e importador..... | 52 |
| Marcas registradas y patentes | 52 |
| Copyright..... | 52 |
| Bibliografía | 53 |
| Revisión del documento..... | 54 |

Uso previsto

La prueba **cobas**® MRSA/SA para uso en el **cobas**® 4800 System es un ensayo automatizado para PCR en tiempo real para pruebas rápidas de detección cualitativa *in vitro* de ADN del *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y de *Staphylococcus aureus* (SA) en muestras de exudado nasal y que ayuda a prevenir y controlar las infecciones por MRSA y SA en el medio sanitario. La prueba **cobas**® MRSA/SA no está diseñada para el diagnóstico, la guía o la supervisión de infecciones por MRSA o SA ni para proporcionar resultados de sensibilidad a la meticilina. Un resultado negativo no excluye la colonización nasal por MRSA/SA. Los cultivos concomitantes son necesarios para recuperar los microorganismos para poder realizar estudios de sensibilidad y tipificación molecular de las cepas.

Resumen y explicación de la prueba/Principio del ensayo

Antecedentes: cribado de MRSA y SA

El SA es un microorganismo patógeno que porta como comensal alrededor del 30% de la población sana en la piel y las fosas nasales. Puede causar un amplio espectro de enfermedades.¹ El SA puede adaptarse rápidamente a la presión selectiva de los tratamientos antibióticos, lo que ha dado lugar a la aparición y propagación de cepas de MRSA. La resistencia a la meticilina, y a otros antibióticos β -lactámicos, tiene su origen en el producto genético *mecA* situado en un elemento genético móvil, el casete cromosómico estafilocócico *mec* (SCC*mec*). El gen *mecA* codifica una proteína de unión a la penicilina alterada (PBP) 2a. Esto evita la unión normal de los antibióticos β -lactámicos a la PBP en la pared celular, lugar donde podrían interrumpir la síntesis de la capa de peptidoglicanos y propiciar así la muerte de las células bacterianas. Se han diferenciado varios tipos de SCC*mec*.² Son muchas las cepas de MRSA que han aparecido y se han propagado por todo el mundo y diferentes linajes de SA han adquirido el SCC*mec*.²

Durante muchos años, las cepas de SA y MRSA han constituido un foco importante de infecciones contraídas en entornos sanitarios y han sido responsables de epidemias bacteriológicas en el medio hospitalario en todo el mundo.^{3,4} Las infecciones por SA y MRSA representan un pesado lastre para el sistema sanitario y los centros hospitalarios, además de suponer un coste significativo.⁵ Todas las directrices y recomendaciones⁶, así como los procedimientos normalizados de los hospitales recomiendan el cribado y aislamiento y/o descolonización de los pacientes como medidas de control de la propagación de las infecciones por MRSA y SA.⁷

En situaciones epidemiológicas, pueden implementarse medidas adicionales como el cribado de pacientes hospitalizados y personal sanitario y el cierre de unidades hospitalarias. Además de las directrices generales, los procedimientos normalizados de trabajo para el control infeccioso pueden variar por países y hospitales.

La sensibilidad de los métodos utilizados y el tiempo necesario para obtener los resultados se erigen como factores clave para el éxito de las estrategias de cribado y tratamiento.⁸ Los métodos convencionales basados en cultivos requieren varios días para la obtención de resultados y no permiten una implementación rápida de medidas de control infeccioso específicas, sino que, por el contrario, precisan medidas de control infeccioso generales adicionales que deben aplicarse a todos los pacientes. Únicamente las técnicas rápidas como los métodos moleculares permiten una detección temprana de las cepas de MRSA y SA en pacientes colonizados y la consiguiente implementación de precauciones de barrera adecuadas.⁹ Un número significativo de estudios ha demostrado la importancia de las pruebas moleculares para la detección rápida de colonización con MRSA y SA.¹⁰⁻¹³

La prueba **cobas**® MRSA/SA permite procesar muestras de exudado nasal recogidas con el kit de obtención, transporte y conservación COPAN MSwab. Los tubos que contienen las muestras primarias se cargan en el **cobas**® 4800 System, donde un proceso automatizado realiza la extracción de ácidos

nucleicos y la configuración de la reacción PCR. El posterior proceso de PCR a tiempo real detecta la presencia de ADN objetivo específico de MRSA y SA en la muestra. La prueba puede realizarse junto con las pruebas **cobas**® Cdiff y **cobas**® HSV 1 y 2 en la modalidad de lote mixto durante la misma serie analítica. Las tres pruebas comparten el mismo proceso automatizado de extracción de las muestras así como el perfil de PCR para los pasos de amplificación y la detección.

Explicación de la prueba

La prueba **cobas**® MRSA/SA se basa en dos procesos básicos: (1) preparación automatizada de las muestras para extraer ácidos nucleicos de las muestras de exudado nasal; (2) amplificación mediante PCR de secuencias de ADN objetivo con ayuda de cebadores (primers) específicos para MRSA y SA y detección a tiempo real de sondas de detección de oligonucleótidos escindidas mediante marcadores fluorescentes específicas para MRSA y SA. Antes de la preparación automatizada de las muestras, se añade un control interno, que contiene una secuencia aleatoria no relacionada de ADN, a todas las muestras y se amplifica y detecta simultáneamente en cada muestra para supervisar el proceso completo.

Principios del ensayo

Preparación de las muestras

La preparación de las muestras para la prueba **cobas**® MRSA/SA se realiza de forma automática en el equipo **cobas**® x 480. Se lleva a cabo la lisis de los organismos mediante un agente caotrópico, proteinasa K y reactivos SDS. Los ácidos nucleicos liberados, junto con el ADN del control interno añadido, se unen mediante micropartículas magnéticas. A continuación, se lavan y se eluden en un volumen reducido de tampón. El equipo extrae entonces una alícuota del material eluido y prepara la reacción PCR con la mezcla maestra activada.

Amplificación mediante PCR y detección mediante TaqMan®

Los pasos de la ciclación por PCR y la detección de la señal objetivo se producen en el analizador **cobas**® z 480. El reactivo de la mezcla maestra contiene pares de cebadores y sondas para tres objetivos: la región de inserción del extremo derecho del casete SCCmec específica de MRSA, un fragmento objetivo genómico para todas las cepas de SA (incluidas las de MRSA) y el control interno. Si las secuencias objetivo de ácidos nucleicos están presentes, la amplificación con los cebadores correspondientes se producirá mediante ADN polimerasa termoestable que generará productos de PCR (amplicon). Estos productos se detectan mediante sondas TaqMan específicas que contienen un marcador fluorescente y un enmascarador. Por lo general, el enmascarador suprime la señal fluorescente del marcador. Sin embargo, con la presencia de un producto de PCR, la sonda se hibridiza con el producto y se escinde por la actividad de las nucleasas 5'-3' de la polimerasa. Esta reacción permite al marcador emitir la fluorescencia y el analizador **cobas**® z 480 registra la señal a tiempo real durante cada ciclo de PCR. La señal se interpreta con el programa del **cobas**® 4800 System y se comunica como resultados finales.


Amplificación selectiva


La amplificación selectiva del fragmento objetivo de ácido nucleico de la muestra se logra en la prueba **cobas**® MRSA/SA mediante el uso de la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen desoxiuridina¹¹, pero no del ADN que contiene desoxitimidina. El ADN natural carece de desoxiuridina, que sin embargo está siempre presente en los amplicones debido al empleo de trifosfato de desoxiuridina en lugar de trifosfato de timidina como uno de los dNTP del reactivo de mezcla maestra; por lo tanto, solamente el amplicón contiene desoxiuridina. La desoxiuridina hace que la enzima AmpErase


pueda destruir el amplicón contaminante antes de realizar la amplificación del ADN del fragmento objetivo. La enzima AmpErase, que se incluye en el reactivo de mezcla maestra, cataliza la escisión del ADN que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico para alcanzar el pH alcalino de la mezcla maestra, la cadena de ADN del amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, lo que hace que el ADN ya no pueda amplificarse. La enzima AmpErase es inactiva a temperaturas superiores a los 55 °C, es decir, durante los pasos de la ciclación térmica y, por consiguiente, no destruye el amplicón objetivo. La prueba **cobas**® MRSA/SA ha demostrado que inactiva un mínimo de 10³ copias del amplicón de MRSA/SA que contiene desoxiuridina por cada ciclo de PCR.


Materiales, reactivos y muestras


Materiales y reactivos suministrados


| Kit/Casetes | Componentes e ingredientes de los reactivos | Cantidad por prueba | Símbolo de seguridad y advertencia* |
|---|--|---------------------|--|
| <p>cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de preparación de muestras para el cobas® 4800 System) 240 pruebas (P/N: 05235782190)</p> | <p>MGP (Micropartículas magnéticas para el cobas® 4800 System) Micropartículas magnéticas 93% de isopropanol**</p> | 10 × 4,5 ml |  <p>PELIGRO H225: Líquido y vapores muy inflamables. H319: Provoca irritación ocular grave. H336: Puede provocar somnolencia o vértigo. P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P370 + P378: En caso de incendio: utilizar arena seca, polvo químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción. 67-63-0 Propan-2-ol</p> |
| | <p>EB (Tampón de elución para el cobas® 4800 System) Tampón Tris 0,09% de azida sódica</p> | 10 × 18 ml | N/A |

| Kit/Casetes | Componentes e ingredientes de los reactivos | Cantidad por prueba | Símbolo de seguridad y advertencia* |
|---|---|---------------------|--|
| cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de preparación de muestras para el cobas® 4800 System) 960 pruebas (P/N: 05235804190) | MGP (Micropartículas magnéticas para el cobas® 4800 System) Micropartículas magnéticas 93% de isopropanol** | 10 × 13,5 ml |  <p>PELIGRO</p> <p>H225: Líquido y vapores muy inflamables. H319: Provoca irritación ocular grave. H336: Puede provocar somnolencia o vértigo. P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P370 + P378: En caso de incendio: utilizar arena seca, polvo químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción. 67-63-0 Propan-2-ol</p> |
| | EB (Tampón de elución para el cobas® 4800 System) Tampón Tris 0,09% de azida sódica | 10 × 18 ml | N/A |

| Kit/Casetes | Componentes e ingredientes de los reactivos | Cantidad por prueba | Símbolo de seguridad y advertencia* |
|---|--|---------------------|--|
| <p>cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 pruebas (P/N: 06768253190)</p> | <p>LYS-1 (Buffer de lisis 1 para el cobas® 4800 System) Citrato de sodio 5 % de polidocanol** 42,6 % de tiocianato de guanidina** Ditiotreitol**</p> | <p>10 x 10 ml</p> |  <p>PELIGRO H302: Nocivo por ingestión. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. EUH071: Corrosivo para las vías respiratorias. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P391: Recoger los derrames. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p> |

| Kit/Casetes | Componentes e ingredientes de los reactivos | Cantidad por prueba | Símbolo de seguridad y advertencia* |
|--|--|---------------------|--|
| cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 pruebas (P/N: 06768253190) | PK (Proteinasa K para el cobas® 4800 System) Buffer Tris EDTA Cloruro de calcio Acetato de calcio < 2,0 % de proteinasa K* Glicerina | 10 × 0,9 ml |  <p>PELIGRO</p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.</p> <p>P261: Evitar respirar la niebla o los vapores.</p> <p>P280: Utilice guantes protectores.</p> <p>P284: Llevar equipo de protección respiratoria.</p> <p>P304 + P340: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.</p> <p>P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico.</p> <p>P342 + P311: En caso de síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>39450-01-6 Proteinasa, serina de <i>Tritirachium album</i></p> |
| | SDS (Reactivo SDS para el cobas® 4800 System) Buffer Tris Sodecilsulfato sódico 0,09 % de azida sódica | 10 × 3 ml | N/D |

| Kit/Casetes | Componentes e ingredientes de los reactivos | Cantidad por prueba | Símbolo de seguridad y advertencia* |
|---|--|---------------------|--|
| <p>cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 pruebas (P/N: 06768270190)</p> | <p>LYS-1 (Buffer de lisis 1 para el cobas® 4800 System) Citrato de sodio 5 % de polidocanol** 42,6 % de tiocianato de guanidina** Ditiotreitol**</p> | <p>10 x 36 ml</p> |  <p>PELIGRO H302: Nocivo por ingestión. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. EUH071: Corrosivo para las vías respiratorias. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P391: Recoger los derrames. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p> |

| Kit/Casetes | Componentes e ingredientes de los reactivos | Cantidad por prueba | Símbolo de seguridad y advertencia* |
|---|--|---------------------|--|
| cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 pruebas (P/N: 06768270190) | PK (Proteínasa K para el cobas® 4800 System) Buffer Tris EDTA Cloruro de calcio Acetato de calcio < 2,0 % de proteínasa K** Glicerina | 20 × 1,2 ml |  <p>PELIGRO H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P280: Utilice guantes protectores. P284: Llevar equipo de protección respiratoria. P304 + P340: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P342 + P311: En caso de síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 39450-01-6 Proteínasa, serina de <i>Tritirachium album</i></p> |
| | SDS (Reactivo SDS para el cobas® 4800 System) Buffer Tris Sodecilsulfato sódico 0,09 % de azida sódica | 10 × 9 ml | N/D |
| cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 pruebas (P/N: 05235863190) | WB (Buffer de lavado para el cobas® 4800 System) Citrato de sodio dihidratado 0,05 % de N-metilisotiazolona-HCl | 10 × 55 ml | N/D |
| cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 pruebas (P/N: 05235871190) | WB (Buffer de lavado para el cobas® 4800 System) Citrato de sodio dihidratado 0,05 % de N-metilisotiazolona-HCl | 10 × 200 ml | N/D |
| cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 series (P/N: 06768318190) | IC-1 (IC-1 cobas® 4800) Buffer Tris EDTA < 0,01 % de ARN poli Ar (sintético) 0,05 % de azida sódica < 0,01 % de ADN de control interno sintético no infeccioso, encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda | 20 × 0,5 ml | N/D |

| Kit/Casetes | Componentes e ingredientes de los reactivos | Cantidad por prueba | Símbolo de seguridad y advertencia* |
|---|---|---------------------|-------------------------------------|
| cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit 80 pruebas (P/N: 06768113190) | MRSA/SA MMX (Master Mix de cobas® MRSA/SA) Buffer Tricina EDTA Acetato de potasio Hidróxido potásico Tween 20 Glicerol 0,09 % de azida sódica < 0,19 % de dATP, dCTP, dGTP y dUTP < 0,01 % de cebadores ascendentes y descendentes para MRSA, SA y control interno < 0,01 % de sondas marcadas para la detección del control interno y sondas con marcador fluorescente para la detección de MRSA y SA < 0,01 % de aptámero oligonucleótido < 0,01 % de ADN polimerasa Z05 (microbiana) < 0,02 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana) | 10 × 0,3 ml | N/D |
| cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit 240 pruebas (P/N: 06768172190) | MRSA/SA MMX (Master Mix de cobas® MRSA/SA) Buffer Tricina EDTA Acetato de potasio Hidróxido potásico Tween 20 Glicerol 0,09 % de azida sódica < 0,19 % de dATP, dCTP, dGTP y dUTP < 0,01 % de cebadores ascendentes y descendentes para MRSA, SA y control interno < 0,01 % de sondas marcadas para la detección del control interno y sondas con marcador fluorescente para la detección de MRSA y SA < 0,01 % de aptámero oligonucleótido < 0,01 % de ADN polimerasa Z05 (microbiana) < 0,02 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana) | 10 × 0,7 ml | N/D |

| Kit/Casetes | Componentes e ingredientes de los reactivos | Cantidad por prueba | Símbolo de seguridad y advertencia* |
|--|--|---------------------|-------------------------------------|
| cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit 10 series (P/N: 06768288190) | MRSA/SA (+) C (Control positivo de cobas® MRSA/SA) Buffer Tris EDTA < 0,01 % de ARN poli Ar (sintético) 0,05 % de azida sódica < 0,01 % de ADN plásmido no infeccioso (microbiano) con secuencia de MRSA < 0,01 % de ADN plásmido no infeccioso (microbiano) con secuencia de SA | 10 × 0,5 ml | N/D |
| | (-) C (Control negativo para el cobas® 4800 System) Buffer Tris EDTA < 0,01 % de ARN poli Ar (sintético) 0,05 % de azida sódica | 10 × 0,5 ml | N/D |
| | Cofactor-1 (Cofactor-1 cobas® 4800) Acetato de manganeso Acetato de magnesio 0,09 % de azida sódica | 10 × 1,7 ml | N/D |

* Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

** Sustancia peligrosa.

Almacenamiento y manipulación de los reactivos

| Reactivo | Temperatura de almacenamiento | Periodo de almacenamiento |
|--|-------------------------------|--|
| cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de preparación de muestras para el cobas® 4800 System) | 2-8 °C | Estable hasta la fecha de caducidad indicada |
| cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Kit de lisis 1 para el cobas® 4800 System) | 2-8 °C | Estable hasta la fecha de caducidad indicada |
| cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Kit de control interno 1 para el cobas® 4800 System) | 2-8 °C | Estable hasta la fecha de caducidad indicada |
| cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit (Kit de amplificación/detección cobas® 4800 MRSA/SA) | 2-8 °C | Estable hasta la fecha de caducidad indicada |
| cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit (Kit de controles y cofactor cobas® 4800 MRSA/SA) | 2-8 °C | Estable hasta la fecha de caducidad indicada |
| cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit de tampón de lavado para el cobas® 4800 System) | 15-25 °C | Estable hasta la fecha de caducidad indicada |

No congele los reactivos.

La fecha de caducidad de los reactivos se basa en el tiempo universal coordinado (UTC). La hora local para la caducidad de los reactivos puede variar en ± 12 horas, en función de la zona horaria local con relación al UTC.

Material adicional necesario

| Material | P/N |
|---|--|
| Puntas CORE, 1.000 µl, bandeja de 96 | 04639642001 |
| Depósito de reactivo de 50 ml | 05232732001 |
| Depósito de reactivo de 200 ml | 05232759001 |
| Placa de extracción (plasmoteca) para el cobas ® 4800 System | 05232716001 |
| Placa de amplificación y detección (PCR) de 0,3 ml y plástico de sellado para el cobas ® 4800 System | 05232724001 |
| Sellador | 04900383001 |
| Transportador de 32 posiciones | 04639529001 |
| Bolsa para residuos sólidos | 05530873001 (pequeña) o 04691989001 (grande) |
| Salida de plástico Hamilton STAR | Roche 04639669001 |
| Sistema de obtención, transporte y conservación MSwab | 07007248190 o COPAN P/N 404C.R o 404C |
| Guantes desechables, sin polvo | Se aceptan todos los tipos de guantes desechables sin polvo. |
| Agitador (un solo tubo) | Se aceptan todos los tipos de agitadores. |

Para obtener más información sobre el material de venta independiente, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Material opcional

| Material | P/N |
|---|---|
| Lámina de sellado o tapa para placa de plasmoteca | Roche 04789288001 o Hamilton 6474-01 |
| Tapones de color blanco (para volver a tapar las muestras primarias después del análisis) | 07033893001 o COPAN 2U008N100.R o 2U008N100 |

Para obtener más información sobre el material opcional, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Equipos y programas necesarios pero no suministrados

| Equipos y programas necesarios, no suministrados |
|---|
| cobas ® 4800 System Equipo cobas ® x 480 Analizador cobas ® z 480 Unidad de control |
| Programa cobas ® MRSA/SA AP para el cobas ® 4800 System versión 1.0.0 o superior |
| Programa de aplicaciones (Core) para el cobas ® 4800 System versión 2.2.0 o superior |

Para obtener más información sobre el material de venta independiente, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

Como sucede con cualquier procedimiento analítico, resulta esencial utilizar las prácticas de laboratorio recomendadas para obtener un rendimiento correcto del ensayo. Debido a la elevada sensibilidad analítica de esta prueba, deben extremarse las precauciones para evitar cualquier tipo de contaminación de los reactivos, las muestras y las mezclas de amplificación.

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- Evite la contaminación microbiana y del ADN de los reactivos y las muestras. Aproximadamente el 30% de la población porta el SA en las fosas nasales o en la piel. El usuario de la prueba debe extremar la atención durante la manipulación de las muestras y los reactivos para evitar una posible contaminación por SA.
- Puede solicitar Hojas de Datos de Seguridad (Safety Data Sheets, SDS) en las oficinas locales de Roche.
- El reactivo LYS-1 contiene tiocianato de guanidina. Evite el contacto directo entre el tiocianato de guanidina y el hipoclorito de sodio (lejía) u otros reactivos altamente reactivos como ácidos o bases. Tales mezclas pueden producir gases nocivos.
- MGP contiene isopropanol y es altamente inflamable. Mantenga el producto lejos de las llamas y lugares donde puedan producirse chispas.
- Las soluciones EB, MRSA/SA MMX, SDS, Cofactor-1, (-)C, MRSA/SA (+)C e IC-1 contienen azida sódica.
- Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del **cobas**® x 480 instrument o el **cobas**® z 480 analyzer, consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System. Si se sospecha de la existencia de contaminación, efectúe una limpieza y el mantenimiento semanal que se describe en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.
- Informe a la autoridad competente local y al fabricante de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

Nota: para obtener instrucciones específicas, consulte el apartado “Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras”.

Prácticas de laboratorio recomendadas

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo del laboratorio.
- Lávese a conciencia las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- Utilice guantes desechables, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de estos materiales con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua. Pueden producirse quemaduras si no se actúa adecuadamente. Si se producen derrames, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10). A continuación, límpielas con un trapo impregnado de etanol al 70%.

Contaminación

- A fin de evitar la contaminación, es obligatorio el uso de guantes durante la manipulación de las muestras y los reactivos **cobas**® MRSA/SA, así como cambiarse los guantes entre un proceso y otro. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles. Utilice guantes y bata de laboratorio junto con protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos del kit.
- Evite la contaminación microbiana y con ribonucleasa de los reactivos.
- Podrían obtenerse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante su manipulación.
- Las muestras deben tratarse como material infeccioso, por lo que deben utilizarse procedimientos de seguridad de laboratorio como los descritos en la publicación *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁴ y en el documento M29-A4 del CLSI.¹⁵

Integridad

- No utilice los kits después de la fecha de caducidad.
- No haga pools con los reactivos.
- No utilice elementos desechables caducados.
- No utilice reactivos ni contenedores que estén visiblemente dañados o muestren signos de fuga.
- Los elementos desechables son de un solo uso. No deben reutilizarse.
- Debe realizarse un correcto mantenimiento del equipo, de acuerdo con lo establecido en las instrucciones del fabricante.

Eliminación de residuos

- Los reactivos **cobas**® 4800 y los reactivos específicos de la prueba **cobas**® MRSA/SA contienen azida sódica (consulte el apartado “**Advertencias y precauciones**”). La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Cuando elimine soluciones que contengan azida sódica vertiéndolas en fregaderos de laboratorio, deje correr abundante agua fría para evitar la formación de depósitos de azida.
- Deseche los reactivos no utilizados y los residuos según la reglamentación nacional, federal, estatal y local.

Nota: para la eliminación de residuos líquidos, consulte la **Asistencia al usuario del cobas® 4800 System**.

Limpieza de derrames

- El reactivo LYS-1 contiene tiocianato de guanidina. Si se derrama líquido que contenga tiocianato de guanidina, límpielo con un detergente apto para laboratorio y agua. Si el líquido vertido contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie PRIMERO el área afectada con detergente para laboratorio y agua y, a continuación, con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%.
- Si el derrame se produce sobre el **cobas**® 4800 instrument, siga las instrucciones de limpieza que se detallan en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.
- No utilice soluciones de hipoclorito de sodio (lejía) para limpiar el **cobas**® x 480 instrument o el **cobas**® z 480 analyzer. Limpie el **cobas**® x 480 instrument o el **cobas**® z 480 analyzer según los procedimientos descritos en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

Nota: manipule todas las muestras como si pudieran transmitir agentes infecciosos.

Obtención de las muestras

Las muestras de exudado nasal recogidas con el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab han sido validadas para su uso con la prueba **cobas**® MRSA/SA. Las muestras deben obtenerse de acuerdo con el procedimiento descrito en el apartado “Procedimiento de obtención de las muestras” y según los procedimientos normalizados de trabajo de su centro.

Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte

Las muestras de exudado nasal recogidas con el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab permanecen estables durante el transporte y el almacenamiento a 2-30 °C durante 4 días o bien a 2-8 °C durante 9 días; si se congelan a -20 °C se mantienen estables durante 30 días antes de proceder a su análisis en el **cobas**® 4800 System (datos comprobados con el análisis de muestras después de un almacenamiento consecutivo a 15 ± 1 °C y 31 ± 1 °C durante 4 días, seguido de un almacenamiento a 2-8 °C durante 5 días y, finalmente, un almacenamiento a -20 ± 5 °C durante 30 días).

El transporte de las muestras de MRSA/SA debe cumplir la reglamentación nacional, federal, estatal y local para el transporte de agentes etiológicos.

Instrucciones de uso

Realización de la prueba

Flujo de trabajo

Ilustración 1: Flujo de trabajo de cobas® MRSA/SA

| | |
|----|---|
| 1 | Inicie el sistema. |
| 2 | Efectúe el mantenimiento del equipo. |
| 3 | Extraiga las muestras y los reactivos del almacenamiento. |
| 4 | Inicie la serie analítica: <ul style="list-style-type: none"> • Cargue los transportadores con las muestras. |
| 5 | Con LIS: confirme la petición de trabajo. Sin LIS: cree la petición de trabajo. |
| 6 | Cargue los consumibles (placa de plasmoteca, placa de PCR, bandejas de puntas) y los reactivos. |
| 7 | Inicie la serie de preparación de las muestras. |
| 8 | Descargue y selle la placa de PCR. |
| 9 | Retire las muestras, los reactivos utilizados y la placa de plasmoteca. |
| 10 | Cargue la placa de PCR en el analizador. |
| 11 | Revise los resultados. |
| 12 | Con LIS: envíe los resultados al LIS. |
| 13 | Descargue el analizador. |

Procedimiento analítico

Procedimiento de obtención de las muestras

1. Utilice la torunda flocada suministrada en el kit de obtención MSwab. La torunda debe estar seca o humedecida previamente con dos gotas de solución salina fisiológica estéril.
2. Introduzca con cuidado la torunda en la fosa nasal del paciente (la punta de la torunda debe introducirse 2,5 cm desde el extremo de las narinas).
3. Pase la torunda a lo largo de la mucosa interna de la fosa nasal 3 veces.
4. Repita los pasos 2 y 3 en la segunda fosa nasal con la misma torunda.
5. Coloque la torunda en su tubo de transporte. Haga palanca con el mango de la torunda contra el borde del tubo para romperlo por el punto de corte.
6. Cierre bien el tapón asegurándose de que el extremo superior del mango de la torunda está situado en el centro del tapón.
7. Etiquete la muestra y transpórtela al laboratorio de análisis de acuerdo con los procedimientos normalizados de trabajo de su centro (consulte el apartado “**Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte**”). Consulte el apartado “**Flujo de trabajo**” para obtener información adicional sobre las muestras.

Todos los reactivos, excepto MRSA/SA MMX y Cofactor-1, deben estar a temperatura ambiente antes de introducirlos en el equipo **cobas**® x 480. Los reactivos MRSA/SA MMX y Cofactor-1 pueden obtenerse directamente del almacenamiento a 2-8 °C, puesto que alcanzarán la temperatura ambiente para cuando vayan a ser utilizados después de cargarse en el equipo **cobas**® x 480.

Nota: consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener información detallada sobre el funcionamiento.

Tamaño de la serie

El **cobas**® 4800 System admite la modalidad de lote mixto entre las pruebas **cobas**® MRSA/SA, **cobas**® Cdiff y **cobas**® HSV 1 y 2. El kit de preparación de muestras genérico para el **cobas**® 4800 System, el kit de lisis 1 genérico para el **cobas**® 4800 System y el kit de tampón de lavado genérico para el **cobas**® 4800 System se encuentran disponibles en dos tamaños de kit, ambos suficientes para 10 series de hasta 24 o 96 muestras, y que incluyen controles y muestras para el análisis de todos los ensayos. El kit de amplificación/detección **cobas**® 4800 MRSA/SA se encuentra disponible en dos tamaños, ambos suficientes para analizar hasta 80 o 240 muestras, y que incluyen controles y muestras de MRSA/SA para el análisis. Pueden utilizarse varios viales de reactivo de mezcla maestra **cobas**® 4800 MRSA/SA tal como sea necesario en una serie, siempre y cuando sean del mismo tamaño de kit. El kit de control interno 1 genérico para el **cobas**® 4800 System y el kit de controles y cofactor **cobas**® 4800 MRSA/SA se encuentran disponibles en un único tamaño de kit, el cual es suficiente para 20 y 10 series, respectivamente, y admite todas las configuraciones de series de análisis. Para cada serie con muestras de MRSA/SA, se deben analizar un control positivo **cobas**® 4800 MRSA/SA y un control negativo para el **cobas**® 4800 System (consulte el apartado “**Control de calidad**”). Para una serie de análisis individual, el número máximo de muestras permitido es 94 muestras y dos controles.

Nota: se puede utilizar un reactivo genérico para 96 pruebas para una serie de 1-22 muestras, si bien no supone una utilización óptima de los reactivos. Sin embargo, no es posible mezclar tamaños distintos del kit de tampón de lavado para el cobas® 4800 System (WB), del kit de preparación de muestras para el cobas® 4800 System ni del kit de lisis 1 para el cobas® 4800 System. Por ejemplo, si se escanea una botella de reactivo WB para 96 pruebas en el momento de iniciar la serie analítica, es preciso utilizar reactivos con un tamaño para 96 pruebas de los otros dos kits.

Nota: se puede utilizar un reactivo MRSA/SA MMX para el cobas® 4800 System para 24 pruebas en una serie de 1-6 muestras de MRSA/SA, si bien no supone una utilización óptima de los reactivos. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener información detallada sobre el cambio de tamaño del kit.

Flujo de trabajo

La prueba **cobas**® MRSA/SA se realiza mediante el flujo de trabajo completo del programa **cobas**® 4800. Consta de la preparación de las muestras en el **cobas**® x 480 instrument y la posterior fase de amplificación/detección en el **cobas**® z 480 analyzer. La serie puede analizarse únicamente para la prueba MRSA/SA o bien en la modalidad de lote mixto con las pruebas **cobas**® Cdiff y/o **cobas**® HSV 1 y 2. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para obtener información detallada.

Muestras

Nota: la prueba cobas® MRSA/SA ha sido validada para su uso con el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab. No utilice otros tipos de dispositivos o medios de recogida en torunda.

Nota: una muestra nasal en torunda recogida correctamente debe contener una sola torunda flocada con el mango capturado por el tapón. Las muestras recibidas sin torunda o con más de una torunda no han sido recogidas de acuerdo con las instrucciones y no deben analizarse.

Nota: no procese muestras de exudado nasal con aspecto sangriento o de color marrón oscuro.

Nota: las muestras deben encontrarse en recipientes de muestras primarias con un código de barras adecuado para su procesamiento en el equipo cobas® x 480. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para conocer los procedimientos adecuados referentes a los códigos de barras y la lista de códigos de barras compatibles con el cobas® 4800 System.

Nota: para evitar la contaminación cruzada, se recomienda procesar los tubos primarios en el cobas® 4800 System antes de realizar otros pasos de procesamiento y análisis.

Nota: para evitar la contaminación cruzada de las muestras procesadas, utilice tapones adicionales para el recipiente de muestra MSwab de un color distinto (blanco, consulte el apartado “Material opcional”) para volver a tapar las muestras después de procesarlas.

Nota: las muestras de exudado nasal recogidas con el sistema MSwab contienen volumen suficiente para dos ensayos en el cobas® 4800 System y también pueden utilizarse para cualquier procesamiento de cultivo necesario (consulte el apartado “Cultivo de muestras clínicas”), siempre que no se hayan derramado durante la manipulación de las muestras antes de realizar la prueba. Consulte el prospecto del sistema de obtención, transporte y conservación MSwab para conocer las instrucciones de inoculación para cultivos. El volumen de muestra mínimo para realizar una serie cobas® MRSA/SA es de 700 µl en el recipiente de muestra primaria MSwab.

Realización de la prueba cobas® MRSA/SA

Nota: es posible realizar series de lote mixto entre las pruebas cobas® MRSA/SA y cobas® Cdiff y/o cobas® HSV 1 y 2. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener más información.

1. Inicie el sistema y lleve a cabo los procedimientos de mantenimiento con ayuda de las instrucciones que aparecen en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.
2. Reúna todos los reactivos y consumibles necesarios. Los reactivos deben encontrarse a temperatura ambiente en el momento de iniciar la serie, a excepción de los reactivos MMX y Cofactor-1 para cobas® MRSA/SA.

Nota: todos los reactivos y los depósitos de reactivos tienen códigos de barras y están diseñados para un solo uso. El programa cobas® 4800 realiza un seguimiento del uso de los reactivos y de los depósitos de reactivos y rechaza los reactivos o depósitos de reactivos usados previamente.

3. Compruebe la apariencia de las muestras de exudado nasal recogidas con el sistema MSwab y asegúrese de que cumplen los requisitos especificados en el apartado “Muestras”. Cerciúrese de que todos los tapones están apretados. Agite la mezcla durante un mínimo de 10 segundos. Destape el tubo (la parte superior de la torunda debe quedar capturada por el tapón) y gire la torunda presionando la pared interna del tubo para eliminar el exceso de líquido. Deseche el tapón con la torunda justo antes de la carga de la muestra en el cobas® 4800 System. Asegúrese de que la torunda se extrae con el tapón. Si la torunda queda dentro del vial de muestra, puede interferir con la prueba cobas® MRSA/SA.

4. Inicie una serie nueva y defina una petición de trabajo para la misma. Existen tres formas de crear una petición:
 - Mediante el editor de muestras antes de cargar la bandeja de muestras en el equipo **cobas**® x 480 (botón “Editor” a la derecha del menú principal). Las peticiones de trabajo pueden guardarse, editarse y recargarse en caso necesario.
 - Mediante las instrucciones del asistente del programa para realizar una serie nueva y la carga de las muestras en el equipo **cobas**® x 480 cuando se le solicite. Los códigos de barras de las muestras se escanean automáticamente y deben definirse los resultados solicitados para cada muestra.
 - Mediante el sistema LIS de su centro.

Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para obtener información detallada. Al seleccionar los resultados solicitados, puede marcar “MRSA” únicamente, tanto “MRSA” como “SA” o bien “SA” únicamente, en función de las pruebas necesarias. Por ejemplo, si se selecciona solo “SA”, no estarán disponibles los resultados para MRSA.

5. Cargue las muestras y defina/seleccione la petición de trabajo o utilice el LIS, según corresponda. La opción “Unload sample carriers after transferring to deep well plate” está seleccionada de forma predeterminada. Esta opción permite al usuario recuperar las muestras restantes tan pronto como sea posible después de extraer alícuotas para su procesamiento en el equipo **cobas**® x 480. Los recipientes de muestras deben volverse a tapar con un dispositivo de cierre nuevo (consulte el apartado “**Material opcional**”) si precisan almacenamiento.
6. Siga las instrucciones del asistente del programa y cargue los consumibles. No cargue ni extraiga puntas individuales en una bandeja para puntas parcialmente utilizada puesto que el programa controla el número de puntas que quedan. En el caso de no haber puntas suficientes para realizar la serie, el programa emitirá una alerta para el usuario.
7. Cargue los reactivos para la preparación de las muestras en los depósitos de reactivos con código de barras. Los depósitos de reactivos están disponibles en dos tamaños: 200 ml y 50 ml. Siga las instrucciones del asistente del programa para seleccionar el tamaño correcto de depósito de reactivo. Los códigos de barras de los depósitos de reactivos deben estar colocados frente al lateral derecho de la bandeja. Utilice el método de doble identificación y llenado para cargar los reactivos para la preparación de las muestras:
 - Leer el código de barras de la botella de reactivo
 - Leer el código de barras del depósito de reactivo
 - Verter el reactivo en el depósito
 - Colocar el depósito lleno de reactivo en la posición indicada de la bandeja de reactivos

Nota: el cobas® 4800 System posee un reloj interno que supervisa el tiempo que llevan cargados los reactivos. Tras leer el WB, se concede 1 hora para completar el proceso de carga y hacer clic en el botón “Start”. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema no permite iniciar la serie si se ha superado el tiempo de carga permitido.

Nota: para garantizar una transferencia precisa de MGP, agite contundentemente el vial de MGP justo antes de dispensarlo en el depósito de reactivo.

8. Cargue los reactivos de amplificación/detección (MRSA/SA MMX y Cofactor-1), la proteinasa K (PK) y los controles [MRSA/SA (+) C, IC y (-) C] directamente en los transportadores de reactivos. A fin de evitar la contaminación, cámbiese de guantes después de manipular los controles positivos.

Nota: el asistente del programa calculará el número óptimo y el tamaño del reactivo cobas® MRSA/SA MMX que debe utilizarse. El resultado se mostrará en la columna “Kit size” de la pantalla de carga de MMX y Cofactor. Para utilizar un tamaño distinto del reactivo cobas® MRSA/SA MMX, haga clic en el botón “Change kit size”.

9. Haga clic en “Start run” para iniciar la preparación de las muestras.
10. Si la serie de preparación de las muestras se realiza correctamente, se activan los botones “Sample Preparation results” y “Unload”. Si lo desea, seleccione el botón “Sample Preparation results” para revisar los resultados y seleccione a continuación “Unload” para descargar el transportador de placas. También puede seleccionar “Unload” para descargar el transportador de placas sin revisar los resultados. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System**.
11. Siga las instrucciones indicadas en la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System** para sellar la microplaca, transportar la placa al **cobas® z 480 analyzer** y empezar la serie de amplificación y detección.

Nota: el cobas® 4800 System posee un reloj interno que supervisa el tiempo transcurrido tras añadir las muestras preparadas a la mezcla maestra activada. La amplificación y la detección se deben iniciar tan pronto como sea posible, nunca después de los 90 minutos posteriores a la finalización de la serie del equipo cobas® x 480. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema cancela la serie si el cronómetro agota el tiempo.

12. Cuando termine la serie de amplificación y detección, descargue la placa de PCR del analizador **cobas® z 480**.
13. Siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System** para revisar y aceptar los resultados.

Resultados

Control de calidad y validez de los resultados

En cada serie se incluye un juego de control positivo y negativo para la prueba **cobas**® MRSA/SA. Para todas las series, es necesario haber obtenido resultados válidos tanto para el control positivo como para el control negativo para que el programa **cobas**® 4800 muestre los resultados de la prueba **cobas**® MRSA/SA de dicha serie.

Control positivo

El control MRSA (+) contiene ADN plasmídico no infeccioso de MRSA y *Staphylococcus aureus*. El control MRSA/SA (+) supervisa los pasos de extracción, amplificación y detección de ácidos nucleicos en una serie concreta de la prueba. El resultado del control MRSA/SA (+) debe tener el valor "Valid". Si los resultados obtenidos para el control MRSA/SA (+) no son válidos de forma recurrente, póngase en contacto con su oficina local de Roche para recibir asistencia técnica.

Control negativo

El control (-) debe tener el valor "Valid". Si los resultados obtenidos para el control (-) no son válidos de forma recurrente, póngase en contacto con su oficina local de Roche para recibir asistencia técnica.

Control interno

El control interno es una molécula fago lambda que contiene secuencias aleatorias y fragmentos objetivo de los cebadores y la sonda específicos para el control interno. El control interno debe añadirse a todas las pruebas y a los controles positivos y negativos durante la preparación de las muestras en el equipo **cobas**® x 480. El control interno supervisa los pasos de extracción, amplificación y detección de ácidos nucleicos en una muestra concreta. El control interno también se requiere para la validación de los controles de la serie.

Interpretación de los resultados

Nota: el programa cobas® 4800 lleva a cabo la validación de los ensayos y las series.

Nota: una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.

En las series consideradas válidas, los resultados de las muestras se interpretan tal como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1 Interpretación de los resultados de la prueba cobas® MRSA/SA

| Prueba cobas® MRSA/SA | Notificación e interpretación de los resultados |
|---------------------------------------|--|
| Resultado solicitado “MRSA/SA” | |
| POS MRSA, POS SA | Positiva para MRSA, positiva para SA La muestra es positiva para la presencia de MRSA y SA. |
| NEG MRSA, NEG SA | Negativa* para MRSA, negativa* para SA No se ha podido detectar la presencia de MRSA ni de SA. |
| NEG MRSA, POS SA | Negativa* para MRSA, positiva para SA No se ha podido detectar la presencia de MRSA. La muestra es positiva para la presencia de SA. |
| Invalid MRSA, POS SA | No válida para MRSA, positiva para SA El resultado para MRSA no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener un resultado válido para MRSA. La muestra es positiva para la presencia de SA. |
| Invalid MRSA, NEG SA | No válida para MRSA, negativa* para SA El resultado para MRSA no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para MRSA. No se ha podido detectar la presencia de SA. |
| NEG MRSA, Invalid SA | Negativa* para MRSA, no válida para SA No se ha podido detectar la presencia de MRSA. El resultado para SA no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener un resultado válido para SA. |
| Invalid MRSA, Invalid SA | No válida para MRSA, no válida para SA Ambos resultados (MRSA y SA) no son válidos. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para MRSA y SA. |
| Failed | Muestra sin resultados Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener instrucciones sobre la revisión de los avisos de la serie y las acciones recomendadas. Si se ha detectado un coágulo y queda volumen suficiente, agite la muestra original durante al menos 10 segundos y vuelva a analizarla para obtener resultados válidos para MRSA y SA. |

Tabla 1 Interpretación de los resultados de la prueba cobas® MRSA/SA (continuación)

| Prueba cobas® MRSA/SA | Notificación e interpretación de los resultados |
|------------------------------------|---|
| Resultado solicitado “MRSA” | |
| POS MRSA | Positiva para MRSA La muestra es positiva para la presencia de MRSA. |
| NEG MRSA | Negativa* para MRSA No se ha podido detectar la presencia de MRSA. |
| Invalid MRSA | No válida para MRSA El resultado para MRSA no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener un resultado válido para MRSA. |
| Failed | Muestra sin resultados Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener instrucciones sobre la revisión de los avisos de la serie y las acciones recomendadas. Si se ha detectado un coágulo y queda volumen suficiente, agite la muestra original durante al menos 10 segundos y vuelva a analizarla para obtener resultados válidos para MRSA. |
| Resultado solicitado “SA” | |
| POS SA | Positiva para SA La muestra es positiva para la presencia de SA. |
| NEG SA | Negativa* para SA No se ha podido detectar la presencia de SA. |
| Invalid SA | No válida para SA El resultado para SA no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener un resultado válido para SA. |
| Failed | Muestra sin resultados Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener instrucciones sobre la revisión de los avisos de la serie y las acciones recomendadas. Si se ha detectado un coágulo y queda volumen suficiente, agite la muestra original durante al menos 10 segundos y vuelva a analizarla para obtener resultados válidos para SA. |

*Un resultado negativo no implica la presencia de MRSA y/o SA porque los resultados dependen de una recogida adecuada de las muestras, de la ausencia de inhibidores y de que haya ADN suficiente para detectarlo.

Pueden obtenerse resultados no válidos si la muestra contiene sustancias inhibidoras que impiden la extracción y/o amplificación y detección de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo. Consulte el apartado **“Limitaciones del procedimiento”** para obtener una lista de las sustancias interferentes.

Pueden obtenerse resultados erróneos si la muestra contiene coágulos que interfieren en el procedimiento de preparación de las muestras en el equipo cobas® 4800.

Lista de avisos de resultados

En la siguiente tabla se indican los avisos relevantes para la interpretación de los resultados.

Tabla 2 Lista de avisos para la prueba cobas® MRSA/SA

| Prueba cobas® MRSA/SA | Prueba cobas® MRSA/SA | Notificación e interpretación de los resultados |
|-----------------------|--|--|
| R20 | El control positivo no es válido. | Un control externo no es válido. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche. |
| R21 | El control negativo no es válido. | Un control externo no es válido. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche. |
| X3 | Error: se ha detectado un coágulo y no se ha podido procesar la muestra. | Asegúrese de que las muestras se hayan manipulado según la descripción del flujo de trabajo. 1. Compruebe que no haya coágulos en la muestra. 2. Vuelva a analizar la muestra. |
| X4 | Error: se ha producido un error de pipeteo. No se ha procesado la muestra. | Lo más probable es que el volumen de muestra sea insuficiente o se haya producido un error mecánico durante el pipeteo. 1. Asegúrese de que haya volumen de muestra suficiente. 2. Compruebe que la placa de expulsión de puntas esté bien colocada. 3. Vuelva a analizar la muestra. |

Cultivo de muestras clínicas

Las muestras clínicas pueden cultivarse a partir de los medios de recogida a fin de realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana o de tipificación epidemiológica. Consulte el prospecto del sistema de obtención, transporte y conservación COPAN MSwab para conocer las instrucciones de procesamiento para cultivos.

Nota: el volumen de muestra mínimo para realizar una prueba cobas® MRSA/SA individual es de 700 µl en el recipiente de muestra primaria MSwab. Para evitar la contaminación cruzada, se recomienda procesar los tubos primarios en el cobas® 4800 System antes de extraer las alícuotas para el cultivo bacteriológico. Si deben extraerse alícuotas de la muestra para cultivo antes de realizar la prueba cobas® MRSA/SA, asegúrese de que haya quedado como mínimo 700 µl de muestra y extreme la atención durante la manipulación de la muestra. El análisis de muestras con un volumen inferior a 700 µl puede resultar en falsos negativos.

Limitaciones del procedimiento

1. La prueba **cobas**® MRSA/SA ha sido validada únicamente para su uso con muestras de exudado nasal recogidas con el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab.
2. La obtención de resultados fiables depende de que la obtención, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras sean adecuados. Siga los procedimientos que encontrará en este documento de instrucciones de uso (también denominado “prospecto”), en los prospectos del sistema de obtención, transporte y conservación MSwab y en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.
3. La detección de MRSA y SA depende del número de organismos presentes en la muestra y puede verse afectada por los métodos de obtención de las muestras, los factores concretos del paciente (p. ej., el estadio de la colonización, el historial de hospitalización, el régimen de tratamiento con antibióticos, la proximidad con el portador de MRSA) y/o las cepas de MRSA/SA.
4. Pueden obtenerse falsos negativos o resultados no válidos debido a la interferencia de diversas sustancias. En la prueba **cobas**® MRSA/SA se incluye un control interno para identificar las muestras que contengan sustancias que puedan interferir en el aislamiento de ácidos nucleicos y la amplificación mediante PCR. Entre las sustancias interferentes conocidas se incluyen, entre otras:
 - Las muestras con un contenido superior al 75% (v/v) de sangre por torunda pueden generar resultados falsos negativos. No analice muestras que presenten un color rojo oscuro o marrón.
 - Las muestras con un contenido superior al 10% (p/v) de mucina por torunda pueden generar resultados falsos negativos.
 - Las muestras con un contenido superior al 15% (p/v) de gel nasal Rhinaris® por torunda pueden generar resultados falsos negativos.
 - Las muestras con un contenido superior al 25% (v/v) de Releev por torunda pueden generar resultados falsos negativos.
5. Un resultado positivo indica la presencia de ADN de MRSA y no necesariamente de organismos viables. Por lo tanto, un resultado positivo no implica forzosamente un fallo en el tratamiento de erradicación. Un resultado negativo obtenido después de un resultado positivo anterior puede indicar el éxito del tratamiento de erradicación pero también puede deberse a una colonización intermitente.
6. La prueba **cobas**® MRSA/SA no detecta el gen *mecA* directamente ni la proteína de unión a la penicilina (PBP 2a) codificada por este gen. Puede obtenerse un resultado falso positivo de MRSA si hay presente una “variante del casete vacía” del *Staphylococcus aureus*.
7. Las mutaciones o los polimorfismos en las regiones de unión de los cebadores o las sondas pueden interferir en la detección de variantes nuevas o no conocidas, lo que resulta en un falso negativo con el ensayo **cobas**® MRSA/SA.
8. El valor predictivo de un ensayo depende de la prevalencia de la enfermedad en una población concreta.
9. La incorporación de la enzima AmpErase a la mezcla maestra **cobas**® 4800 MRSA/SA permite realizar una amplificación selectiva del ADN objetivo; no obstante, es imprescindible utilizar las prácticas de laboratorio recomendadas y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos y de las mezclas de amplificación.
10. El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización del **cobas**® 4800 System.

11. Solamente el equipo **cobas**[®] x 480 y el analizador **cobas**[®] z 480 se han validado para su uso con este producto. No debería utilizarse ningún otro equipo de preparación de muestras ni sistema de PCR con este producto.
12. Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. No cabe esperar un porcentaje de concordancia del 100% entre los resultados debido a las diferencias entre tecnologías indicadas anteriormente.
13. La contaminación cruzada puede causar resultados falsos positivos. Según un estudio no clínico, la tasa de contaminación cruzada entre muestras de la prueba **cobas**[®] MRSA/SA en el **cobas**[®] 4800 System es del 0%. No se ha observado contaminación cruzada entre series.

Evaluación no clínica del rendimiento

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección o LoD) de la prueba **cobas**® MRSA/SA se ha determinado mediante el análisis cuantitativo de aislados de cepas del MRSA y SA en cultivo realizado en varios niveles con un mínimo de 61 réplicas por nivel. La preparación de las muestras para la prueba se realizó agregando el cultivo a la torunda flocada, que posteriormente se deja incubar en una matriz simulada de torundas nasales. La matriz simulada compuesta por mucina y células humanas reproduce el efecto del fondo de muestras nasales clínicas en la prueba **cobas**® MRSA/SA. Se analizaron todos los miembros del panel con la prueba **cobas**® MRSA/SA con tres lotes de reactivos de la prueba **cobas**® MRSA/SA. El LoD de esta prueba es la concentración objetivo que puede detectarse como positiva en $\geq 95\%$ de las réplicas analizadas, según los resultados generados por el lote de reactivos con un peor rendimiento.

Para el estudio de sensibilidad analítica se analizaron dos aislados MRSA y uno SA. En la Tabla 3 se muestra el LoD de la prueba **cobas**® MRSA/SA para estos aislados.

Tabla 3 Límite de detección (LoD) de la prueba **cobas**® MRSA/SA

| Micro-organismo | Origen | ID origen | Tipo RE | Tipo SCCmec | Tipo spa | PFGE | Valor MIC | Niveles analizados | LoD (UFC/torunda) |
|-----------------|--------|-----------|---------|-------------|----------|-------------|-----------|--------------------|-------------------|
| MRSA | NARSA | NRS384 | 2 | IVa | t008 | USA300-0114 | 32 | 9 | 650 |
| MRSA | ATCC | 43300 | 2 | II | t007 | Sac-15 | N/A | 8 | 700 |
| SA | NARSA | NRS164 | N/A | N/A | t084 | N/A | N/A | 8 | 700 |

N/A = No aplicable

Detección de los genotipos de MRSA y SA

Los límites de detección de la prueba **cobas**® MRSA/SA para 35 aislados de MRSA y cinco aislados de SA representativos de los genotipos más comunes (incluidos los tipos 1, 2, 3, 4 y 6 de RE, los tipos SCCmec I, II, III, IV, V, VI y VIII de MRSA y los tipos de electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) de MRSA USA 100 a 1000) se comprobaron mediante el análisis de 40 réplicas por nivel en varios niveles. La diversidad genética de MRSA/SA de esta colección está representada por diferentes tipos de SCCmec, MREJ y spa del género *Staphylococcus aureus* determinados por su estructura filogenética y cepas representativas de los diferentes tipos de PFGE. Las diluciones y muestras para el análisis se prepararon de manera similar al estudio del límite de detección (LoD) descrito anteriormente. En la Tabla 4 y la Tabla 5 se indica el nivel mínimo con una tasa de positividad observada de un 95% como mínimo. Los resultados corroboran que la prueba **cobas**® MRSA/SA es capaz de detectar correctamente las 35 cepas de MRSA y las cinco cepas de SA con un LoD comprendido entre 175 y 750 UFC/torunda. Las cepas detectadas representan un mínimo de ocho tipos de SCCmec (I, II, III, IV, V, VI, VIII, and new), 10 tipos de MREJ, 21 tipos de spa, nueve tipos de PFGE y valores de CMI para cefoxitina comprendidos entre 8 y más de 32.

Tabla 4 Límite de detección (LoD) de la prueba cobas® MRSA/SA para los genotipos de MRSA

| N.º aislado MRSA | Tipo RE | Tipo SCCmec | Tipo spa | Valor MIC | Tipo PFGE | LoD (UFC/torunda) |
|------------------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|
| 1 | 11 | Nuevo | t002 | >32 | Desconocido | 485 |
| 2 | 6 | II | t242 | >32 | Desconocido | 720 |
| 3 | 9/11 | Nuevo | t024 | 16 | Desconocido | 175 |
| 4 | 14 | Desconocido | Desconocido | Desconocido | Desconocido | 700 |
| 5 | 25 | Desconocido | t003 | >32 | Desconocido | 175 |
| 6 | 6 | II | t216 | >32 | USA100 | 720 |
| 7 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 350 |
| 8 | 2 | II | t037 | 32 | USA200 | 700 |
| 9 | 2 | IV | t1578 | >32 | USA300 | 700 |
| 10 | 2 | II | t002 | >32 | USA100 | 720 |
| 11 | 2 | IV | t008 | 16 | USA800 | 750 |
| 12 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 266 |
| 13 | 2 | IV | t064 | 32 | USA500 | 260 |
| 14 | 2 | IV | t148 | 32 | USA700 | 700 |
| 15 | 2 | IV | t688 | 32 | USA800 | 271 |
| 16 | 2 | IV | t688 | >32 | USA300 | 700 |
| 17 | 2 | II | t042 | 32 | USA100 | 463 |
| 18 | 2 | II | t018 | >32 | USA200 | 350 |
| 19 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 410 |
| 20 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 175 |
| 21 | 2 | IV | t5576 | 32 | USA800 | 202 |
| 22 | 2 | II | t004 | 32 | USA600 | 350 |
| 23 | 2 | IV | t216 | 32 | USA1000 | 350 |
| 24 | 2 | IV | t064 | 32 | Ibérico | 175 |
| 25 | 2 | II | t266 | >32 | USA600 | 700 |
| 26 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 700 |
| 27 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 350 |
| 28 | 2 | IV | t002 | >32 | USA800 | 350 |
| 29 | 3 | V | t242 | 32 | USA1000 | 350 |
| 30 | 24 | Nuevo | t476 | 8 | Desconocido | 350 |
| 31 | 1 | I | t149 | >32 | Desconocido | 175 |
| 32 | 3 | VIII | Desconocido | 16 | Desconocido | 700 |
| 33 | 4 | IV | Desconocido | 12 | Desconocido | 350 |
| 34 | 2 | III | t030 | >32 | Desconocido | 700 |
| 35 | 25 | VI | Desconocido | Desconocido | Desconocido | 175 |

Tabla 5 Límite de detección (LoD) de la prueba cobas® MRSA/SA para los genotipos de SA

| N.º aislado SA | Tipo spa | LoD (UFC/torunda) |
|----------------|----------|-------------------|
| 1 | t238 | 175 |
| 2 | t018 | 175 |
| 3 | t008 | 175 |
| 4 | t002 | 175 |
| 5 | t088 | 175 |

Inclusividad geográfica

Además de los 37 aislados de MRSA y seis aislados de SA incluidos en los estudios de sensibilidad analítica e inclusividad de genotipos indicados anteriormente, se analizaron 281 aislados de MRSA y 85 aislados de SA de diferentes orígenes geográficos con concentraciones próximas al límite de detección de la prueba cobas® MRSA/SA. La colección de 281 aislados de MRSA de 16 países incluía aislados de MRSA de distintos tipos de SCCmec (I, II, III, IV, IVa, V, VI, VII y nuevos), 71 tipos de spa y valores de CMI para cefoxitina comprendidos entre 6 y más de 256. La colección de 85 aislados de SA de diferentes orígenes geográficos de Estados Unidos contenía aislados de SA de 75 tipos de spa diferentes. La prueba cobas® MRSA/SA detectó los 85 aislados de SA. De los 281 aislados de MRSA, detectó 277. Los cuatro aislados de MRSA que la prueba cobas® MRSA/SA no es capaz de detectar se secuenciaron; los resultados obtenidos sugieren que las regiones del fragmento objetivo contenían secuencias que no reconocen los cebadores y las sondas de la prueba cobas® MRSA/SA. Uno de los cuatro aislados era una cepa mec ALGA251 (conocida también como mec C). Los orígenes geográficos de las muestras de MRSA se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6 Inclusividad geográfica de la prueba cobas® MRSA/SA

| Origen geográfico | Número total de aislados MRSA | Detectados por la prueba cobas® MRSA/SA |
|-------------------|-------------------------------|---|
| Reino Unido | 58 | 58 |
| Alemania | 51 | 51 |
| Dinamarca | 37 | 36 |
| Francia | 33 | 31 |
| EE.UU. | 20 | 20 |
| España | 20 | 20 |
| Suiza | 18 | 18 |
| Japón | 15 | 15 |
| Suecia | 7 | 7 |
| Australia | 6 | 5 |
| Holanda | 5 | 5 |
| Italia | 4 | 4 |
| Bélgica | 3 | 3 |
| Escocia | 2 | 2 |
| Irlanda | 1 | 1 |
| Noruega | 1 | 1 |
| Total | 281 | 277 |

Precisión

El estudio de precisión interna se llevó a cabo con dos aislados MRSA y un aislado SA diluidos en una matriz simulada de torundas nasales con niveles de concentración por debajo del límite de detección (LoD), próximos al LoD y superiores al LoD de la prueba **cobas®** MRSA/SA. También se analizó un nivel negativo compuesto únicamente por la matriz simulada de torundas nasales. En el estudio se utilizaron tres lotes únicos de reactivos de la prueba **cobas®** MRSA/SA y tres instrumentos para un total de 36 series realizadas durante 12 días. En la Tabla 7 figura una descripción de los paneles de precisión y de la tasa de positividad de rendimiento del estudio. En el análisis de variación de los valores de Ct de los ensayos realizados con los miembros del panel positivos por encima del nivel del LoD (véase la Tabla 8 y la Tabla 9) se obtuvieron rangos de CV (%) globales comprendidos entre 0,8% y 1,3% para el Ct de MRSA y de 1,2% para el Ct de SA.

Tabla 7 Análisis de la tasa de positividad del estudio de precisión interna

| Miembro del panel | Aislado | Concentración objetivo | N pruebas | N Positivos | Tasa de positividad | IC del 95% | |
|-------------------|------------------|------------------------|-----------|-------------|---------------------|------------|----------|
| | | | | | | Inferior | Superior |
| 1 | NRS164 (SA) | < 1 x LoD | 71 | 67 | 94,4% | 86,2% | 98,4% |
| 2 | NRS164 (SA) | ~ 1 x LoD | 72 | 72 | 100,0% | 95,0% | 100,0% |
| 3 | NRS164 (SA) | ~ 3 x LoD | 72 | 72 | 100,0% | 95,0% | 100,0% |
| 4 | NRS384 (MRSA) | < 1 x LoD | 72 | 57 | 79,2% | 68,0% | 87,8% |
| 5 | NRS384 (MRSA) | ~ 1 x LoD | 72 | 72 | 100,0% | 95,0% | 100,0% |
| 6 | NRS384 (MRSA) | ~ 3 x LoD | 72 | 72 | 100,0% | 95,0% | 100,0% |
| 7 | ATCC43300 (MRSA) | < 1 x LoD | 72 | 63 | 87,5% | 77,6% | 94,1% |
| 8 | ATCC43300 (MRSA) | ~ 1 x LoD | 72 | 72 | 100,0% | 95,0% | 100,0% |
| 9 | ATCC43300 (MRSA) | ~ 3 x LoD | 72 | 72 | 100,0% | 95,0% | 100,0% |
| 10 | Ninguna | Negativos | 72 | 0 | 0,0% | 0,0% | 5,0% |

Tabla 8 Análisis de los componentes de variación para los miembros del panel de precisión por encima del LoD

| Cepa | Ct medio | Componentes de variación/Porcentaje de contribución al total | | | | | Total |
|----------------|----------|--|----------------|-------------|-------|------------|--------|
| | | Lote | Tamaño del kit | Instrumento | Serie | Aleatorios | |
| NRS 164 (SA) | 35,6 | 0,050 | 0,023 | 0,007 | 0,032 | 0,082 | 0,193 |
| | | 25,9% | 11,7% | 3,6% | 16,5% | 42,3% | 100,0% |
| NRS 384 (MRSA) | 36,9 | 0,057 | 0,003 | 0,027 | 0,057 | 0,101 | 0,244 |
| | | 23,2% | 1,2% | 11,1% | 23,3% | 41,2% | 100,0% |
| ATCC 43300 | 38,0 | 0,003 | 0,024 | 0,007 | 0,010 | 0,037 | 0,082 |
| | | 4,1% | 29,6% | 8,9% | 12,5% | 44,9% | 100,0% |

Tabla 9 Análisis de las desviaciones estándar y los coeficientes de variación (%) de los miembros del panel de precisión

| Cepa | Ct medio | SD componentes/CV (%) | | | | | Total |
|----------------|----------|-----------------------|----------------|-------------|-------|------------|-------|
| | | Lote | Tamaño del kit | Instrumento | Serie | Aleatorios | |
| NRS164 (SA) | 35,6 | 0,224 | 0,150 | 0,084 | 0,178 | 0,286 | 0,440 |
| | | 0,6% | 0,4% | 0,2% | 0,5% | 0,8% | 1,2% |
| NRS 384 (MRSA) | 36,9 | 0,238 | 0,054 | 0,165 | 0,239 | 0,317 | 0,494 |
| | | 0,6% | 0,1% | 0,4% | 0,6% | 0,9% | 1,3% |
| ATCC 43300 | 38,0 | 0,058 | 0,156 | 0,086 | 0,102 | 0,192 | 0,287 |
| | | 0,2% | 0,4% | 0,2% | 0,3% | 0,5% | 0,8% |

Inhibición competitiva

Se formaron los paneles con dos aislados MRSA utilizados como fragmento objetivo con un límite de detección (LoD) 3x de la prueba **cobas**® MRSA/SA, así como con aislados competitivos *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* resistente a la metilina (SERM) con concentraciones en aumento. El aumento de la concentración de SA o SERM no incide en la detección de los fragmentos objetivo de MRSA/SA, como demuestra su valor Ct relativamente estable (Tabla 10).

Tabla 10 Estudio de inhibición competitiva para MRSA mediante SA (valores de Ct)

| Organismo competitivo (concentración) | Fragmento objetivo | | |
|---|--------------------|-----------|----------|
| | MRSA 10364 | MRSA 8065 | SA 10851 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (1 x objetivo) | 38,2 | 38,8 | N/A |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (100 x objetivo) | 38,1 | 39,1 | N/A |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10851 (10000 x objetivo) | 38,4 | 38,8 | N/A |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (1 x objetivo) | 38,1 | 39,0 | N/A |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (100 x objetivo) | 38,5 | 39,3 | N/A |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10852 (10000 x objetivo) | 37,4 | 39,0 | N/A |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (1 x objetivo) | 37,9 | 39,5 | 36,5 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (100 x objetivo) | 38,6 | 38,6 | 36,5 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 5649 (10000 x objetivo) | 38,1 | 39,7 | 37,0 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (1 x objetivo) | 39,0 | 40,1 | 36,9 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (100 x objetivo) | 38,4 | 39,1 | 36,5 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 5657 (10000 x objetivo) | 38,3 | 39,7 | 36,7 |

Especificidad analítica

Para valorar la especificidad analítica de la prueba **cobas**® MRSA/SA se analizaron los siguientes paneles: 1) 92 bacterias, hongos y virus que pueden estar presentes en muestras de exudado nasal (Tabla 11); 2) células humanas (Tabla 11); 3) 43 *Staphylococcus coagulasa* negativos (SCN) y *Staphylococcus coagulasa* negativos resistentes a la meticilina (SCNRM) (Tabla 12); 4) 10 aislados SA con resistencia límite a la meticilina (BORSA) y dos aislados SA exclusivamente para la especificidad de MRSA (Tabla 13).

Todas las bacterias y células humanas se añadieron a 1×10^6 unidades*/ml o más, a excepción de *Chlamydia pneumoniae*, mientras que todos los virus se añadieron a la máxima concentración permitida por los stocks correspondientes (1×10^5 unidades*/ml excepto el adenovirus 1 e Influenza A/H1N1). El análisis se realizó solamente con los organismos o con dos aislados MRSA y un aislado SA presentes con un límite de detección (LoD) 3x de la prueba **cobas**® MRSA/SA. Los resultados indican que ninguno de los organismos interfiere en la detección de los fragmentos objetivo de MRSA o SA. Tampoco generaron resultados falsos positivos en ausencia del fragmento objetivo MRSA/SA previsto.

*Todas las bacterias se cuantificaron como unidades formadoras de colonias (UFC), a excepción de *Chlamydia pneumoniae*, que se cuantificó como copias de ADN. El metapneumovirus humano se cuantificó en partículas víricas. Los adenovirus 1, 7 y 40, el enterovirus humano, HSV1, los virus Influenza A/H3N2A/Hong Kong/8/68, el virus del sarampión, el virus de las paperas, los virus parainfluenza 1, 2 y 3, los virus coronavirus 229E, coronavirus OC43, el citomegalovirus y los rinovirus se cuantificaron en unidades formadoras de placa (UFP). Los RSV A y RSV B se cuantificaron en unidades TCID₅₀. Los virus Influenza A/H1N1 e Influenza B se cuantificaron en unidades EID₅₀. EBV se cuantificó por copias.

Tabla 11 Microorganismos presentes habitualmente en la flora nasal y analizados para la determinación de la especificidad analítica

| | | |
|-----------------------------------|---|---|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | <i>Haemophilus parainfluenzae</i> | <i>Streptococcus anginosus</i> |
| <i>Acinetobacter haemolyticus</i> | <i>Issatchenkia orientalis</i> | <i>Streptococcus mitis</i> |
| <i>Bacillus cereus</i> | <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Streptococcus mutans</i> |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> (productor de KPC) ATCC n.º 700603 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> |
| <i>Bordetella parapertussis</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> (productor de KPC) ATCC n.º BAA1900 | <i>Streptococcus pyogenes</i> |
| <i>Bordetella pertussis</i> | <i>Lactobacillus crispatus</i> | <i>Streptococcus salivarius</i> |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | <i>Lactobacillus delbrueckii</i> | <i>Streptococcus sanguinis</i> |
| <i>Candida albicans</i> | <i>Legionella pneumophila</i> | <i>Streptococcus suis</i> |
| <i>Candida glabrata</i> | <i>Leifsonia aquatica</i> | <i>Yersinia enterocolitica</i> |
| <i>Candida parapsilosis</i> | <i>Listeria monocytogenes</i> | <i>Adenovirus 40</i> |
| <i>Candida tropicalis</i> | <i>Microbacterium testaceum</i> | <i>Coronavirus 229E</i> |
| <i>Chlamydia pneumoniae</i> * | <i>Micrococcus luteus</i> | <i>Coronavirus OC43</i> |
| <i>Citrobacter freundii</i> | <i>Moraxella catarrhalis</i> | <i>Citomegalovirus</i> |
| <i>Citrobacter koseri</i> | <i>Mycobacterium tuberculosis avirulent</i> | <i>Virus Epstein Barr</i> |
| <i>Corynebacterium amycolatum</i> | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | <i>VHS 1</i> |
| <i>Corynebacterium bovis</i> | <i>Mycoplasma salivarium</i> | <i>Adenovirus humano tipo 1*</i> |
| <i>Corynebacterium flavescens</i> | <i>Neisseria meningitidis</i> | <i>Adenovirus humano tipo 7A</i> |
| <i>Corynebacterium genitalium</i> | <i>Parvimonas micra</i> | <i>Human enterovirus 71</i> |
| <i>Corynebacterium glutamicum</i> | <i>Pasteurella aerogenes</i> | <i>Human metapneumovirus</i> |
| <i>Corynebacterium jeikeium</i> | <i>Planococcus maritimus</i> | <i>Virus de la gripe A/H1N1</i> |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | <i>Proteus mirabilis</i> | <i>Virus Influenza A/H3N2 A/ Hong Kong/8/68</i> |
| <i>Eikenella corrodens</i> | <i>Proteus vulgaris</i> | <i>Virus Influenza B</i> |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | <i>Providencia stuartii</i> | <i>Virus del sarampión</i> |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Virus de las paperas</i> |
| <i>Enterococcus flavescens</i> | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | <i>Virus paragripal 1</i> |
| <i>Enterococcus gallinarum</i> | <i>Rhodococcus equi</i> | <i>Virus paragripal 2</i> |
| <i>Enterococcus hirae</i> | <i>Rothia mucilaginosa</i> | <i>Virus paragripal 3</i> |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Salmonella enterica subsp. Enterica</i> | <i>Rinovirus tipo 1A</i> |
| <i>Fingoldia magna</i> | <i>Serratia marcescens</i> | <i>VRS A</i> |
| <i>Haemophilus aphrophilus</i> | <i>Shigella sonnei</i> | <i>VRS B</i> |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | <i>Streptococcus agalactiae</i> | <i>Células HCT-15 (ADN genómico humano)</i> |

* *Chlamydia pneumoniae* se analizó a $1,0 \times 10^5$ copias/ml y el adenovirus tipo 1 a $1,0 \times 10^4$ UFP/ml.

Tabla 12 Organismos SCN y SCNRM estrechamente relacionados analizados para la determinación de la especificidad

| | | |
|---|--|--|
| <i>Staphylococcus arlettae</i> | <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC27676 (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus pasteurii</i> |
| <i>Staphylococcus auricularis</i> (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus equorum</i> | <i>Staphylococcus pseudointermedius</i> |
| <i>Staphylococcus caprae</i> (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus felis</i> | <i>Staphylococcus pulvereri</i> |
| <i>Staphylococcus capitis</i> | <i>Staphylococcus gallinarum</i> | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> |
| <i>Staphylococcus carnosus</i> | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC29970 | <i>Staphylococcus schleiferi</i> |
| <i>Staphylococcus chromogenes</i> | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC29968 (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus sciuri</i> |
| <i>Staphylococcus cohnii</i> | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC43252 | <i>Staphylococcus simulans</i> ATCC27848 (resistente a la meticilina) |
| <i>Staphylococcus delphini</i> | <i>Staphylococcus hominis</i> ATCC25615 | <i>Staphylococcus simulans</i> ATCC11631 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC14990 (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus hominis</i> ATCC35982 | <i>Staphylococcus warneri</i> ATCC27836 (resistente a la meticilina) |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35547 (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus hominis</i> ATCC27844 | <i>Staphylococcus warneri</i> ATCC27839 (resistente a la meticilina) |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35983 (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus hominis</i> ATCC27845 | <i>Staphylococcus warneri</i> RMSCC1224 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC35984 (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus intermedius</i> | <i>Staphylococcus xylosum</i> ATCC35663 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC51624 (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus kloosii</i> | <i>Staphylococcus xylosum</i> ATCC29971 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC51625 (resistente a la meticilina) | <i>Staphylococcus lentus</i> | - |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC700583 | <i>Staphylococcus lugdunensis</i> | - |

Tabla 13 Aislados SA y BORSA analizados para la determinación de la especificidad de MRSA

| | |
|--|--|
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10851 | <i>Staphylococcus aureus</i> 10323 (BORSA) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10852 | <i>Staphylococcus aureus</i> 10324 (BORSA) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10319 (BORSA) | <i>Staphylococcus aureus</i> 10325 (BORSA) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10320 (BORSA) | <i>Staphylococcus aureus</i> 10326 (BORSA) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10321 (BORSA) | <i>Staphylococcus aureus</i> 10327 (BORSA) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10322 (BORSA) | <i>Staphylococcus aureus</i> 10328 (BORSA) |

Interferencia

Se analizaron 25 medicamentos nasales o de garganta de uso frecuente, así como sangre total y mucina, para detectar posibles efectos de interferencia con la prueba **cobas**® MRSA/SA. Todas las sustancias se analizaron con niveles superiores a lo que cabría esperar razonablemente en una torunda de exudado nasal. La cantidad de sustancia interferente se expresa en forma de porcentaje con relación a la cantidad máxima que una torunda podría absorber o transportar. Se añadieron dos aislados MRSA y un aislado SA al límite de detección (LoD) 3x de la prueba **cobas**® MRSA/SA y se utilizaron como valores objetivo de los ensayos. No se observaron interferencias de sustancias exógenas en el 100% de la capacidad de la torunda, excepto Relenza® (sin interferencias hasta el 6,25% de capacidad de la torunda), Rhinaris® Nasal Gel (sin interferencias hasta el 15% de la capacidad de la torunda) y Releev (sin interferencias hasta el 25% de la capacidad de la torunda). Cabe mencionar que el análisis de Relenza® se realizó solamente hasta el 6,25% de la capacidad de la torunda porque este porcentaje representa la cantidad total de una aplicación normal de este medicamento según la prescripción médica. En el caso de la sangre total, no se observaron interferencias hasta el 75% de la capacidad de la torunda y, en el caso de la mucina, no se observaron interferencias hasta el 10% de capacidad de la torunda. Los resultados se resumen en la Tabla 14.

Tabla 14 Resultados del análisis de sustancias interferentes

| Sustancia | Resultados |
|--|---|
| Sangre total | Sin interferencias hasta el 75% de capacidad de la torunda |
| Mucina | Sin interferencias hasta el 10% de capacidad de la torunda |
| Aerosol nasal Afrin | Sin interferencias |
| Aerosol nasal Beconase | Sin interferencias |
| Ungüento nasal Bepanthen® | Sin interferencias |
| Pastillas para el dolor de garganta Chloraseptic Max | Sin interferencias |
| Aerosol nasal de propionato de fluticasona (50 mcg) | Sin interferencias |
| FluMist® (Afluria, vacuna para el virus de la gripe) | Sin interferencias |
| Solución nasal con flunisolida USP, 0,025% | Sin interferencias |
| Ungüento de mupirocina | Sin interferencias |
| Nebulizador nasal Dristan™ | Sin interferencias |
| Luffeel™ | Sin interferencias |
| Aerosol nasal de acetónido de triamcinolona | Sin interferencias |
| Aerosol nasal NasalCrom | Sin interferencias |
| Aerosol nasal Nasonex | Sin interferencias |
| Neo-Syneprine | Sin interferencias |
| Aerosol nasal Otrivine | Sin interferencias |
| Relenza® | Sin interferencias hasta el 6,25% de capacidad de la torunda* |
| Suspensión para inhalación Budesonide 0,25 mg/2 ml | Sin interferencias |
| Solución nasal de acetilcolina HCl | Sin interferencias |
| Suero fisiológico humectante en aerosol Equate | Sin interferencias |
| Gel nasal Rhinaris® | Sin interferencias hasta el 15% de capacidad de la torunda |
| Solución oftálmica de tobramicina y dexametasona | Sin interferencias |
| Releev (para herpes labial) | Sin interferencias hasta el 25% de capacidad de la torunda |
| Gel nasal Zicam | Sin interferencias |
| Inhalador nasal QVAR (40 mcg) | Sin interferencias |
| Nostrilla | Sin interferencias |

* Esta concentración representa la cantidad total de Relenza® que se aplicaría en un solo uso según la información de la prescripción.

Rendimiento clínico con muestras clínicas

Se comparó el rendimiento de la prueba **cobas**® MRSA/SA con el de una de las pruebas NAT comparativas más avanzadas autorizada por la FDA y con marcado CE. Como método de referencia para el estudio se utilizó una combinación de cultivos bacterianos directos/enriquecidos. Se obtuvieron dos muestras de exudado nasal de cada sujeto inscrito en el estudio. La muestra para la prueba **cobas**® MRSA/SA se obtuvo mediante el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab, mientras que la muestra para la prueba de comparación se obtuvo mediante torundas para medio líquido Stuart. Se utilizó la muestra MSwab para inocular una placa de medio cromogénico selectivo y una placa de medio cromogénico diferencial tanto para MRSA como para SA (cultivo directo), así como un tubo con caldo digerido de soja y caseína (TSB) con un 6,5% de NaCl para el enriquecimiento rápido (cultivo enriquecido). Posteriormente, se preparan las placas del cultivo enriquecido para el medio cromogénico. Las presuntas colonias positivas de SA en placas cromogénicas se confirmaron mediante una prueba de aglutinación en látex (Staphraurex®, Remel Microbiology Products, Thermo Scientific, Inc.). Las presuntas colonias de MRSA también se confirmaron posteriormente mediante la prueba de difusión en disco de cefoxitina.

El estudio se realizó con un total de 383 sujetos procedentes de dos centros de la UE. Se excluyeron cuatro sujetos debido a resultados incompletos para una de las pruebas. 27 muestras resultaron positivas para MRSA y 144 positivas para SA mediante la técnica combinada de cultivo directo/enriquecido (prevalencia: MRSA 7,1%, SA 38,0%). En la Tabla 15 se muestra el rendimiento de la prueba **cobas**® MRSA/SA y de la prueba NAT de comparación con el método de cultivo directo.

Tabla 15 Resultados de la prueba **cobas**® MRSA/SA y la prueba de ácidos nucleicos (NAT) comparativa en cultivo directo

| MRSA | | Cultivo directo | |
|---------------------------|------------|--------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| cobas ® MRSA/SA | Positivos | 15 | 18 |
| | Negativos | 1 | 345 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Sensibilidad | 94% | 70% | 100% |
| Especificidad | 95% | 92% | 97% |

| SA | | Cultivo directo | |
|---------------------------|------------|--------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| cobas ® MRSA/SA | Positivos | 121 | 29 |
| | Negativos | 5 | 224 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Sensibilidad | 96% | 91% | 99% |
| Especificidad | 89% | 84% | 92% |

| MRSA | | Cultivo directo | |
|----------------------|------------|--------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| NAT comparativa | Positivos | 14 | 16 |
| | Negativos | 2 | 347 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Sensibilidad | 88% | 62% | 98% |
| Especificidad | 96% | 93% | 97% |

| SA | | Cultivo directo | |
|----------------------|------------|--------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| NAT comparativa | Positivos | 122 | 31 |
| | Negativos | 4 | 222 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Sensibilidad | 97% | 92% | 99% |
| Especificidad | 88% | 83% | 92% |

En la Tabla 16 se muestra el rendimiento de la prueba **cobas**® MRSA/SA y de la prueba NAT de comparación con el método combinado de cultivo directo/enriquecido. En este análisis, un resultado positivo (obtenido mediante cultivo directo o enriquecido) se considera positivo. Los resultados negativos se obtienen solamente cuando resultan negativos tanto el cultivo directo como el enriquecido.

Tabla 16 Resultados de la prueba cobas® MRSA/SA y la prueba de ácidos nucleicos (NAT) comparativa en cultivo directo/enriquecido

| MRSA | | Cultivo directo/enriquecido | |
|----------------------|------------|--------------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| cobas® MRSA/SA | Positivos | 25 | 8 |
| | Negativos | 2 | 344 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Sensibilidad | 93% | 76% | 99% |
| Especificidad | 98% | 96% | 99% |

| SA | | Cultivo directo/enriquecido | |
|----------------------|------------|--------------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| cobas® MRSA/SA | Positivos | 137 | 13 |
| | Negativos | 7 | 222 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Sensibilidad | 95% | 90% | 98% |
| Especificidad | 94% | 91% | 97% |

| MRSA | | Cultivo directo/enriquecido | |
|----------------------|------------|--------------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| NAT comparativa | Positivos | 24 | 6 |
| | Negativos | 3 | 346 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Sensibilidad | 89% | 71% | 98% |
| Especificidad | 98% | 96% | 99% |
| VPN | 99% | 98% | 100% |
| VPP | 80% | 61% | 92% |

| SA | | Cultivo directo/enriquecido | |
|----------------------|------------|--------------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| NAT comparativa | Positivos | 138 | 15 |
| | Negativos | 6 | 220 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Sensibilidad | 96% | 91% | 98% |
| Especificidad | 94% | 90% | 96% |
| VPN | 97% | 94% | 99% |
| VPP | 90% | 84% | 94% |

Por último, en la Tabla 17 se muestra el rendimiento de la prueba cobas® MRSA/SA comparándola directamente con la prueba NAT comparativa más avanzada autorizada por la FDA y con marcado CE.

Tabla 17 Comparación de los resultados de la prueba cobas® MRSA/SA con los de la prueba de ácidos nucleicos (NAT)

| MRSA | | NAT comparativa | |
|--|------------|--------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| cobas® MRSA/SA | Positivos | 28 | 5 |
| | Negativos | 2 | 344 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Concordancia de positividad | 93% | 78% | 99% |
| Concordancia de negatividad | 99% | 97% | 100% |

| SA | | NAT comparativa | |
|--|------------|--------------------------|-------------------------|
| | | Positivos | Negativos |
| cobas® MRSA/SA | Positivos | 144 | 6 |
| | Negativos | 9 | 220 |
| | Estimación | IC al 95% (Lím. inf.) | IC al 95% (Lím.sup.) |
| Concordancia de positividad | 94% | 89% | 97% |
| Concordancia de negatividad | 97% | 94% | 99% |

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba cobas® MRSA/SA en el cobas® 4800 System se estableció mediante una investigación multicentro con muestras clínicas artificiales evaluadas entre lote, centro/instrumento, operador, días y serie.

Se prepararon paneles de reproducibilidad de la prueba MRSA/SA mediante la siembra de las cepas NRS384 (MRSA-384) y ATCC 43300 (MRSA-43300) de MRSA, o la cepa RMSCC 10851 de SA en una matriz de muestras artificiales (muestras nasales clínicas MSwab simuladas con mucina y células epiteliales humanas) con una de las tres concentraciones (inferior al LoD, 1 × LoD y 3 × LoD); se incluyó un miembro de panel negativo para MRSA/SA como miembro de panel de control. En total, se obtuvieron 10 miembros por panel de prueba con 3 réplicas por miembro del panel en cada serie. Se analizaron los paneles en 3 centros, por parte de 2 operadores en cada centro, con 1 serie por operador y día, durante 5 días por lote, con 2 lotes, hasta obtener un total de 1.800 pruebas (180 pruebas/miembro de panel o 90 pruebas/miembro de panel/lote). En total, se realizaron 60 series, siendo todas ellas válidas. No se registraron pruebas erróneas ni no válidas.

Resultados de reproducibilidad para MRSA

La Tabla 18 resume los resultados de reproducibilidad de MRSA para los valores de Ct y la concordancia de porcentajes (IC exacto bilateral del 95 %) por centro y miembro del panel. La concordancia de porcentaje de positivos para los miembros del panel positivos para MRSA, “Inferior al LoD de MRSA-384” e “Inferior al LoD de MRSA-43300,” fue del 85,6 % (IC del 95 %: entre 79,6 % y 90,3 %) y del 87,2 % (IC del 95 %: entre 81,4 % y 91,7 %), respectivamente; la concordancia de porcentaje de positivos para el resto de miembros del panel positivos para MRSA fue del 100,0 % (IC del 95 %: entre 98,0 % y 100,0 %). La SD total y el CV total (%) de los valores de Ct para todos los miembros del panel positivos para MRSA fueron $\leq 0,51$ % y $\leq 1,4$ %, respectivamente.

Tabla 18 Resumen de los resultados de reproducibilidad para MRSA — Valores de Ct y concordancia de porcentajes por centro y miembro del panel

| Miembro del panel | Resultados de la prueba válidos (n) | Ct | | | Porcentaje de concordancia por centro (n/N) ^a | | | Concordancia total | |
|-------------------------------|-------------------------------------|-------|------|--------|--|------------------|------------------|----------------------|----------------------------|
| | | Media | SD | CV (%) | 1 | 2 | 3 | Porcentaje (n/N) | (IC del 95 %) ^b |
| Negativa | 180 | N/A | N/A | N/A | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| Inferior al LoD de MRSA-384 | 180 | 40,3 | 0,43 | 1,1 | 95,0 (57/60) | 83,3 (50/60) | 78,3 (47/60) | 85,6 % (154/180) | (79,6 %, 90,3 %) |
| 1 × LoD MRSA-384 | 180 | 38,0 | 0,49 | 1,3 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| 3 × LoD MRSA-384 | 180 | 36,3 | 0,44 | 1,2 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| Inferior al LoD de MRSA-43300 | 180 | 40,4 | 0,40 | 1,0 | 91,7 (55/60) | 81,7 (49/60) | 88,3 (53/60) | 87,2 % (157/180) | (81,4 %, 91,7 %) |
| 1 × LoD MRSA-43300 | 180 | 38,9 | 0,45 | 1,1 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| 3 × LoD MRSA-43300 | 180 | 37,4 | 0,51 | 1,4 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |

^a Para el miembro del panel negativo, concordancia de porcentaje = (número de resultados negativos ÷ total de resultados válidos) × 100; para miembros del panel positivos, concordancia de porcentaje = (número de resultados positivos ÷ total de resultados válidos) × 100.

^b IC del 95 % = intervalo de confianza binomial exacto bilateral del 95 %.

IC = intervalo de confianza; Ct = ciclo umbral; CV = coeficiente de variación; LoD = límite de detección;

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina; MRSA-384 = *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina cepa NRS384;

MRSA-43300 = *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina cepa ATCC 43300; N/A = no aplicable; SA = *Staphylococcus aureus*.

La Tabla 19 presenta la SD y el CV (%) de los valores de Ct para los miembros del panel positivos para MRSA en general y atribuibles al lote, centro/instrumento, operador, día e intraserie.

Tabla 19 Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para los valores Ct de resultados válidos para miembros del panel positivos — MRSA

| MRSA | | | Desviación estándar y porcentaje de coeficiente de variación | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-----|----------|--|-------|--------------|-------|---------|-------|------|-------|------------|-------|-------|-------|
| | | | Lote | | Centro/Inst. | | Usuario | | Día | | Intraserie | | Total | |
| Miembro del panel | N | Ct medio | SD | CV | SD | CV | SD | CV | SD | CV | SD | CV | SD | CV |
| Inferior al LoD de MRSA-384 | 154 | 40,3 | 0,00 | 0,0 % | 0,06 | 0,2 % | 0,00 | 0,0 % | 0,23 | 0,6 % | 0,36 | 0,9 % | 0,43 | 1,1 % |
| 1 × LoD MRSA-384 | 180 | 38,0 | 0,07 | 0,2 % | 0,18 | 0,5 % | 0,00 | 0,0 % | 0,17 | 0,5 % | 0,41 | 1,1 % | 0,49 | 1,3 % |
| 3 × LoD MRSA-384 | 180 | 36,3 | 0,12 | 0,3 % | 0,20 | 0,6 % | 0,02 | 0,1 % | 0,15 | 0,4 % | 0,35 | 1,0 % | 0,44 | 1,2 % |
| Inferior al LoD de MRSA-43300 | 157 | 40,4 | 0,03 | 0,1 % | 0,07 | 0,2 % | 0,06 | 0,1 % | 0,02 | 0,0 % | 0,39 | 1,0 % | 0,40 | 1,0 % |
| 1 × LoD MRSA-43300 | 180 | 38,9 | 0,00 | 0,0 % | 0,11 | 0,3 % | 0,00 | 0,0 % | 0,19 | 0,5 % | 0,39 | 1,0 % | 0,45 | 1,1 % |
| 3 × LoD MRSA-43300 | 180 | 37,4 | 0,13 | 0,4 % | 0,24 | 0,6 % | 0,12 | 0,3 % | 0,10 | 0,3 % | 0,40 | 1,1 % | 0,51 | 1,4 % |

Ct = ciclo umbral; CV = coeficiente de variación; Inst. = instrumento; LoD = límite de detección; MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina; MRSA-384 = *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina cepa NRS384; MRSA-43300 = *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina cepa ATCC 43300; SD = desviación estándar.

Resultados de reproducibilidad para SA

La Tabla 20 resume los resultados de reproducibilidad de SA para los valores de Ct y la concordancia de porcentajes (IC exacto bilateral del 95 %) por centro y miembro del panel. La concordancia de porcentaje de positivos para los miembros del panel positivos para SA “Inferior al LoD de SA,” “1 × LoD SA” y “3 × LoD SA” fue del 50,0 % (IC del 95 %: entre 42,5 % y 57,5 %), el 99,4 % (IC del 95 %: entre 96,9 % y 100,0 %) y del 100,0 % (IC del 95 %: entre 98,0 % y 100,0 %), respectivamente. La SD total y el CV total (%) de los valores de Ct para todos los miembros del panel positivos para SA fueron ≤ 0,49 % y ≤ 1,3 %, respectivamente. La concordancia de porcentaje de negativos para los miembros del panel negativos para MRSA/SA fue del 100,0 % (IC del 95 %: entre 98,0 % y 100,0%).

Tabla 20 Resumen de los resultados de reproducibilidad de SA — Valores de Ct y concordancia de porcentajes por centro y miembro del panel

| Miembro del panel | Resultados de la prueba válidos (n) | Ct | | | Porcentaje de concordancia por centro (n/N) ^a | | | Concordancia total | |
|-----------------------|-------------------------------------|-------|------|--------|--|------------------|------------------|----------------------|----------------------------|
| | | Media | SD | CV (%) | 1 | 2 | 3 | Porcentaje (n/N) | (IC del 95 %) ^b |
| Negativa | 180 | N/A | N/A | N/A | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| Inferior al LoD de SA | 180 | 38,6 | 0,46 | 1,2 | 23,3 (14/60) | 60,0 (36/60) | 66,7 (40/60) | 50,0 % (90/180) | (42,5 %, 57,5 %) |
| 1 × LoD SA | 180 | 36,8 | 0,49 | 1,3 | 100,0 (60/60) | 98,3 (59/60) | 100,0 (60/60) | 99,4 % (179/180) | (96,9 %, 100,0 %) |
| 3 × LoD SA | 180 | 35,1 | 0,38 | 1,1 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |

^a Para el miembro del panel negativo, concordancia de porcentaje = (número de resultados negativos ÷ total de resultados válidos) × 100; para miembros del panel positivos, concordancia de porcentaje = (número de resultados positivos ÷ total de resultados válidos) × 100.

^b IC del 95 % = intervalo de confianza binomial exacto bilateral del 95 %.

IC = intervalo de confianza; Ct = ciclo umbral; CV = coeficiente de variación; LoD = límite de detección; N/A = no aplicable; SA = *Staphylococcus aureus*.

La Tabla 21 presenta la SD y el CV (%) de los valores de Ct para los miembros del panel positivos para SA en general y atribuibles al lote, centro/instrumento, operador, día e intraserie.

Tabla 21 Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para los valores Ct de resultados válidos para miembros del panel positivos — SA

| SA | | | Desviación estándar y porcentaje de coeficiente de variación | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|-----|----------|--|-------|--------------|-------|---------|-------|------|-------|------------|-------|-------|-------|
| | | | Lote | | Centro/Inst. | | Usuario | | Día | | Intraserie | | Total | |
| Miembro del panel | N | Ct medio | SD | CV | SD | CV | SD | CV | SD | CV | SD | CV | SD | CV |
| Inferior al LoD de SA | 90 | 38,6 | 0,00 | 0,0 % | 0,00 | 0,0 % | 0,00 | 0,0 % | 0,00 | 0,0 % | 0,46 | 1,2 % | 0,46 | 1,2 % |
| 1 × LoD SA | 179 | 36,8 | 0,14 | 0,4 % | 0,29 | 0,8 % | 0,13 | 0,3 % | 0,16 | 0,4 % | 0,31 | 0,8 % | 0,49 | 1,3 % |
| 3 × LoD SA | 180 | 35,1 | 0,11 | 0,3 % | 0,14 | 0,4 % | 0,12 | 0,3 % | 0,02 | 0,1 % | 0,31 | 0,9 % | 0,38 | 1,1 % |

Ct = ciclo umbral; CV = coeficiente de variación; LoD = límite de detección; SA = *Staphylococcus aureus*; SD = desviación estándar.

Rendimiento clínico

El rendimiento clínico de la prueba **cobas**® MRSA/SA se estableció mediante una investigación multicéntrica prospectiva aprobada por la Junta de Revisión Institucional (IRB) en la que se comparaban los resultados del cultivo cromogénico directo y del cultivo cromogénico directo combinado con el cultivo enriquecido utilizando exudados nasales de sujetos masculinos y femeninos elegibles.

La obtención de las muestras se realizó en seis centros geográficamente distintos de los EE. UU. Se obtuvieron una o dos muestras de exudado de cada sujeto; uno de los exudados se obtuvo para el análisis estándar de referencia (si procede) y el otro, una muestra MSwab (Copan Flock Technologies Srl., Brescia, Italy), para la prueba **cobas**® MRSA/SA y para el cultivo directo y enriquecido.

Se realizó la prueba **cobas**® MRSA/SA en tres centros y el método combinado de cultivo directo y enriquecido, en un laboratorio de referencia especializado en cultivos y detección molecular de MRSA y SA resistentes a la meticilina. Se transfirió una alícuota de 100 µl de la muestra MSwab de cada sujeto directamente a una placa de medio cromogénico selectivo y a otra de medio cromogénico diferencial de MRSA y SA (cultivo directo), así como a un tubo con caldo de triptona de soja (TSB) con 6,5 % de NaCl (cultivo enriquecido). Los aislados sospechosos y los caldos de cultivo enriquecidos positivos se sometieron a un subcultivo en agar sangre ovina al 5 %, así como los aislados identificados como positivos para SA mediante tinción Gram y pruebas de aglutinación en látex. Los aislados de MRSA putativos se confirmaron mediante la prueba Kirby-Bauer de difusión en disco de cefoxitina para la resistencia a la meticilina.

Las muestras positivas para MRSA/SA mediante la técnica de cultivo directo o del cultivo enriquecido se consideraron muestras positivas para MRSA/SA mediante cultivo. Las muestras negativas para MRSA/SA tanto mediante cultivo directo como enriquecido se consideraron muestras negativas para MRSA/SA mediante cultivo.

Se realizaron análisis de discrepancias en todas las muestras con resultados discordantes entre la prueba **cobas**® MRSA/SA y el método combinado de cultivo directo y enriquecido, así como en un subconjunto de muestras seleccionadas aleatoriamente con resultados concordantes incluidas como controles, mediante una segunda prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) aprobada por la FDA y el cultivo directo y enriquecido no selectivo. A continuación se inoculó una alícuota de 100 µl de muestra MSwab restante (sobrante) a una placa de agar chocolate (cultivo directo no selectivo) y una segunda alícuota de 100 µl, a un caldo de triptona de soja (TSB) sin NaCl (cultivo enriquecido no selectivo). Los aislados recuperados del cultivo directo y enriquecido no selectivo se caracterizaron según lo descrito; además, se confirmó la identificación de aislados atípicos sospechosos mediante un ensayo de PCR desarrollado en laboratorio para los genes *femA* y *mecA* según la práctica establecida por el laboratorio de referencia.

Resultados

De un total de 2.528 muestras de sujetos se obtuvieron 2.504 (99,1 %) resultados evaluables de 1.372 hombres (54,8 %) y 1.132 (45,2 %) mujeres. La mayoría de los sujetos tenían > 50 años (67,2 %), con edades comprendidas en una horquilla de 18 a 101 años (edad media = 57). 160 muestras resultaron positivas para MRSA y 660, para SA.

Comparación entre el rendimiento de la prueba cobas® MRSA/SA y el cultivo directo y enriquecido combinados (método de referencia)

La comparación entre el rendimiento de la prueba **cobas**® MRSA/SA y el método combinado de cultivo directo y enriquecido de 2.500 resultados evaluables para MRSA, y de 2.501 resultados evaluables para SA, se muestra en la Tabla 22.

La sensibilidad y especificidad para MRSA en comparación con el cultivo directo y enriquecido combinados fueron del 93,1 % (149/160) y del 97,5 % (2.281/2.340), respectivamente; respecto a la prevalencia, el VPP y el VPN fueron del 6,4 %, 71,6 % y 99,5 %, respectivamente.

La sensibilidad y especificidad para SA en comparación con el cultivo directo y enriquecido combinados fueron del 93,9 % (620/660) y del 94,2 % (1.734/1.841), respectivamente; respecto a la prevalencia, el VPP y el VPN fueron del 26,4 %, 85,3 % y 97,7 %, respectivamente.

Tabla 22 Comparación de los resultados de la prueba **cobas**® MRSA/SA y el cultivo directo y enriquecido (método de referencia)

| | | Cultivo directo y enriquecido (método de referencia) | | | | | |
|--|----------|--|----------|-------|----------|----------|-------|
| | | MRSA | | | SA | | |
| | | Positiva | Negativa | Total | Positiva | Negativa | Total |
| Prueba cobas® MRSA/SA | Positiva | 149 | 59 | 208 | 620 | 107 | 727 |
| | Negativa | 11 | 2.281 | 2.292 | 40 | 1.734 | 1.774 |
| | Total | 160 | 2.340 | 2.500 | 660 | 1.841 | 2.501 |
| <p style="text-align: center;">MRSA</p> <p>Sensibilidad: 93,1 % (149/160), IC al 95 %: 88,1-96,1 %</p> <p>Especificidad: 97,5 % (2.281/2.340), IC al 95 %: 96,8-98,0 %</p> <p>Prevalencia: 6,4 %</p> <p>VPP: 71,6 %</p> <p>VPN: 99,5 %</p> <p style="text-align: center;">SA</p> <p>Sensibilidad: 93,9 % (620/660), IC al 95 %: 91,9-95,5 %</p> <p>Especificidad: 94,2 % (1.734/1.841), IC al 95 %: 93,0-95,2 %</p> <p>Prevalencia: 26,4 %</p> <p>VPP: 85,3 %</p> <p>VPN: 97,7 %</p> | | | | | | | |

Nota: los sujetos con resultados para el cultivo directo y resultados válidos para la prueba **cobas**® MRSA/SA se consideran evaluables y se incluyen en esta tabla.

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina; VPN = valor predictivo negativo;

VPP = valor predictivo positivo; SA = *Staphylococcus aureus*.

Comparación entre los resultados de la prueba cobas® MRSA/SA y del cultivo directo

La Tabla 23 muestra la comparación entre los resultados de la prueba **cobas**® MRSA/SA y los del cultivo directo de 2.504 resultados evaluables.

La concordancia global de porcentaje de positivos y negativos de la prueba **cobas**® MRSA/SA para MRSA en comparación con la del cultivo directo fue del 96,9 % (2.427/2.504), 97,1 % (135/139) y 96,9 % (2.292/2.365), respectivamente; la prevalencia fue del 5,6 %.

La concordancia global de porcentaje de positivos y negativos de la prueba **cobas**® MRSA/SA para SA en comparación con la del cultivo directo fue del 93,3 % (2.336/2.504), 97,0 % (577/595) y del 92,1 % (1.759/1.909), respectivamente; la prevalencia fue del 23,8 %.

Tabla 23 Comparación de los resultados de la prueba cobas® MRSA/SA y el cultivo directo

| | | Cultivo directo | | | | | |
|--|----------|---|----------|-------|----------|----------|-------|
| | | MRSA | | | SA | | |
| | | Positiva | Negativa | Total | Positiva | Negativa | Total |
| Prueba cobas® MRSA/SA | Positiva | 135 | 73 | 208 | 577 | 150 | 727 |
| | Negativa | 4 | 2.292 | 2.296 | 18 | 1.759 | 1.777 |
| | Total | 139 | 2.365 | 2.504 | 595 | 1.909 | 2504 |
| MRSA | | | | | | | |
| Concordancia de porcentaje de positivos: | | 97,1 % (135/139), IC al 95 %: 92,8-98,9 % | | | | | |
| Concordancia de porcentaje de negativos: | | 96,9 % (2.292/2.365), IC al 95 %: 96,1-97,5 % | | | | | |
| Porcentaje de concordancia global: | | 96,9 % (2.427/2.504), IC al 95 %: 96,2-97,5 % | | | | | |
| Prevalencia: | | 5,6 % | | | | | |
| SA | | | | | | | |
| Concordancia de porcentaje de positivos: | | 97,0 % (577/595), IC al 95 %: 95,3-98,1 % | | | | | |
| Concordancia de porcentaje de negativos: | | 92,1 % (1.759/1.909), IC al 95 %: 90,8-93,3 % | | | | | |
| Porcentaje de concordancia global: | | 93,3 % (2.336/2.504), IC al 95 %: 92,2-94,2 % | | | | | |
| Prevalencia: | | 23,8 % | | | | | |

Nota: los sujetos con resultados para el cultivo directo y resultados válidos para la prueba cobas® MRSA/SA se consideran evaluables y se incluyen en esta tabla.

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina; SA = *Staphylococcus aureus*.

Análisis de discrepancias de muestras discordantes y concordantes

Se realizaron análisis de discrepancias de todas las muestras discordantes (Tabla 22) entre la prueba cobas® MRSA/SA y el método combinado de cultivo directo y enriquecido (método de referencia), así como de un subconjunto aleatorio de muestras concordantes incluidas como controles, con una segunda prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) aprobada por la FDA y el cultivo directo y enriquecido no selectivo.

Había un total de 70 muestras con resultados para MRSA discordantes: 11 resultados falsos negativos para MRSA y 59 resultados falsos positivos para MRSA (Tabla 22). De las 11 muestras falsas negativas para MRSA, 5 resultaron negativas para MRSA con un segundo método NAAT y un cultivo directo y enriquecido no selectivo. De las 59 muestras falsas positivas para MRSA, 20 resultaron positivas para MRSA con un segundo método NAAT o un cultivo directo y/o enriquecido no selectivo.

Había un total de 147 muestras con resultados para SA discordantes: 40 resultados falsos negativos para SA y 107 resultados falsos positivos para SA (Tabla 22). De las 40 muestras falsas negativas para SA, 31 resultaron negativas para SA con un segundo método NAAT y un cultivo directo y enriquecido no selectivo. De las 107 muestras falsas positivas para SA, 24 resultaron positivas para SA con un segundo método NAAT o un cultivo directo y/o enriquecido no selectivo.

En el análisis de discrepancias se incluyeron como control 74 muestras concordantes seleccionadas aleatoriamente: 25 muestras concordantes positivas para MRSA, 25 negativas para SA y 24 positivas para SA/negativas para MRSA. De los 74 controles, todas las 25 muestras positivas para MRSA resultaron positivas para MRSA con un segundo método NAAT o cultivo directo no selectivo y/o enriquecido; todas las 25 muestras negativas para SA resultaron negativas para SA con un segundo método NAAT y cultivo directo no selectivo y cultivo enriquecido; y de las 24 muestras positivas para SA, 21 resultaron positivas para SA con un segundo método NAAT o cultivo directo y/o enriquecido no selectivo, 1 resultó positiva para MRSA con un cultivo enriquecido no selectivo y 2 resultaron negativas para SA con un segundo método NAAT y cultivo directo y enriquecido no selectivo.

Valores esperados

Prevalencia

La prevalencia de la portación nasal de MRSA y SA depende de una variedad de factores entre los que figuran la estancia en un centro de asistencia prolongada, infección o colonización previa por MRSA, diabetes mellitus, contacto estrecho con un portador de MRSA/SA y uso previo de antibióticos. La prevalencia global de MRSA y SA observada con la prueba **cobas**® MRSA/SA en comparación con el método combinado de cultivo directo y enriquecido durante un ensayo clínico multicéntrico fue del 6,4 % y del 26,4 %, respectivamente.

Valores predictivos positivos y negativos hipotéticos de la prueba **cobas**® MRSA/SA para MRSA

Los valores predictivos positivos y negativos (VPP y VPN) hipotéticos derivados de las tasas de portación comprendidas entre el 1 y el 30 % para la prueba **cobas**® MRSA/SA para MRSA se muestran en la Tabla 24. La sensibilidad y especificidad de la prueba **cobas**® MRSA/SA en comparación con el método combinado de cultivo directo y enriquecido (referencia) para MRSA fue del 93,1 % y del 97,5 %, respectivamente.

Tabla 24 Valores predictivos positivos y negativos hipotéticos para MRSA obtenidos de la prevalencia de la portación nasal

| Prevalencia (%) | Sensibilidad (%) | Especificidad (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|-----------------|------------------|-------------------|---------|---------|
| 1 | 93,1 % | 97,5 % | 27,2 % | 99,9 % |
| 5 | 93,1 % | 97,5 % | 66,0 % | 99,6 % |
| 10 | 93,1 % | 97,5 % | 80,4 % | 99,2 % |
| 15 | 93,1 % | 97,5 % | 86,7 % | 98,8 % |
| 20 | 93,1 % | 97,5 % | 90,2 % | 98,3 % |
| 25 | 93,1 % | 97,5 % | 92,5 % | 97,7 % |
| 30 | 93,1 % | 97,5 % | 94,1 % | 97,1 % |

Nota: la sensibilidad y especificidad se establecieron mediante la comparación de los resultados de la prueba **cobas**® MRSA/SA con los del método combinado de cultivo directo y enriquecido a partir de muestras de exudado nasal de pacientes analizados para detectar la presencia de MRSA o la colonización de SA.

VPN = valor predictivo negativo; VPP = valor predictivo positivo.

Valores predictivos positivos y negativos hipotéticos de la prueba cobas® MRSA/SA para SA

Los valores predictivos positivos y negativos (VPP y VPN) hipotéticos derivados de las tasas de portación comprendidas entre el 1 y el 30 % para la prueba **cobas®** MRSA/SA para SA se muestran en la Tabla 25. La sensibilidad y especificidad de la prueba **cobas®** MRSA/SA en comparación con el método combinado de cultivo directo y enriquecido (referencia) para SA fue del 93,9 % y del 94,2 %, respectivamente.

Tabla 25 Valores predictivos positivos y negativos hipotéticos para SA obtenidos de la prevalencia de la portación nasal

| Prevalencia (%) | Sensibilidad (%) | Especificidad (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|-----------------|------------------|-------------------|---------|---------|
| 1 | 93,9 % | 94,2 % | 14,0 % | 99,9 % |
| 5 | 93,9 % | 94,2 % | 46,0 % | 99,7 % |
| 10 | 93,9 % | 94,2 % | 64,2 % | 99,3 % |
| 15 | 93,9 % | 94,2 % | 74,0 % | 98,9 % |
| 20 | 93,9 % | 94,2 % | 80,2 % | 98,4 % |
| 25 | 93,9 % | 94,2 % | 84,3 % | 97,9 % |
| 30 | 93,9 % | 94,2 % | 87,4 % | 97,3 % |

Nota: la sensibilidad y especificidad se establecieron mediante la comparación de los resultados de la prueba **cobas®** MRSA/SA con los del método combinado de cultivo directo y enriquecido a partir de muestras de exudado nasal de pacientes analizados para detectar la presencia de MRSA o la colonización de SA.

VPN = valor predictivo negativo; VPP = valor predictivo positivo.

Información adicional





















































Características principales del ensayo

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra | Exudado nasal |
| Cantidad de muestra necesaria | 1,6 ml de medio MSwab en viales primarios; se necesitan 700 µl como mínimo para una prueba cobas ® MRSA/SA. |
| Duración de la prueba | Los resultados están listos al cabo de 2,5 horas de la carga de la muestra en el sistema (entre 1 y 22 muestras). |
| Sensibilidad analítica | Entre 175 UFC/torunda y 750 UFC/torunda según el aislado. |
| Especificidad | Sin reactividad cruzada con 147 organismos estrechamente relacionados o que suelen estar presentes en las muestras nasales. |
| Inclusividad | Se analizaron y detectaron un total de 314 aislados MRSA y 91 aislados SA de 16 países, representativos de un mínimo de 7 tipos de SCCmec, 10 tipos de RE y 71 tipos de spa. |

Símbolos

Los símbolos siguientes se emplean en el rotulado de todos los productos de diagnóstico por PCR de Roche.

Tabla 26 Símbolos utilizados para el etiquetaje de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

| | | |
|---|---|---|
|  Edad o fecha de nacimiento |  Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente |  UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados. |
|  Software auxiliar |  Dispositivo no apto para autoexamen |  Número de serie |
|  Intervalo asignado (copias/ml) |  Distribuidor <i>(Nota: el país o la región se indicará debajo de este símbolo.)</i> |  Centro |
|  Intervalo asignado (UI/ml) |  No deben reutilizarse |  Procedimiento estándar |
|  Representante autorizado en la Comunidad Europea |  Mujeres |  Esterilizado con óxido de etileno |
|  Hoja de datos del código de barras |  Para evaluación del rendimiento IVD únicamente |  Almacenar en la oscuridad |
|  Código de serie |  Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial) |  Límite de temperatura |
|  Riesgo biológico |  Importador |  Archivo de definición de pruebas |
|  Número de catálogo |  Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> |  Este lado hacia arriba |
|  Marcado CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el marcado CE de un producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> . |  Límite inferior del intervalo asignado |  Procedimiento ultrasensible |
|  Fecha de recogida |  Hombres |  Identificación exclusiva del dispositivo |
|  Consulte las instrucciones de uso |  Fabricante |  Límite superior del intervalo asignado |
|  Suficiente para <n> pruebas |  Control negativo |  Línea de llenado de orina |
|  Contenido del kit |  Sin esterilizar |  Solamente para EE. UU.: la ley federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica. |
|  Control |  Nombre del paciente |  Fecha de caducidad |
|  Fecha de fabricación |  Número del paciente | |
|  Dispositivo para pruebas cerca del paciente |  Abrir aquí | |
|  Dispositivo para autoexamen |  Control positivo | |
| |  Copias QS por reacción de PCR, utilice copias QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados. | |

Asistencia técnica

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su afiliada local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabla 27 Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Fabricado en los EE. UU.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Marcas registradas y patentes

Consulte <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.

Bibliografia

1. Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *J Infect Dis.* 2006;193(2):172-179. Epub 2005/12/20.
2. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Mol Med.* 2009;9(2):100-115. Epub 2009/03/12.
3. Bode LG, Kluytmans JA, Wertheim HF, et al. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med.* 2010;362(1):9-17. Epub 2010/01/08.
4. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis.* 2001;32 Suppl 2:S114-132. Epub 2001/04/26.
5. Reed SD, Friedman JY, Engemann JJ, et al. Costs and outcomes among hemodialysis-dependent patients with methicillin-resistant or methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005;26(2):175-183. Epub 2005/03/11.
6. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003;24(5):362-386. Epub 2003/06/06.
7. Huang SS, Yokoe DS, Hinrichsen VL, et al. Impact of routine intensive care unit surveillance cultures and resultant barrier precautions on hospital-wide methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2006;43(8):971-978. Epub 2006/09/20.
8. Peterson LR, Diekema DJ. To screen or not to screen for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2010;48(3):683-689. Epub 2010/01/15.
9. Cunningham R, Jenks P, Northwood J, Wallis M, Ferguson S, Hunt S. Effect on MRSA transmission of rapid PCR testing of patients admitted to critical care. *J Hosp Infect.* 2007;65(1):24-28. Epub 2006/12/06.
10. French GL. Methods for screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15 Suppl 7:10-16. Epub 2009/12/03.
11. Hardy K, Price C, Szczepura A, et al. Reduction in the rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in surgical wards by rapid screening for colonization: a prospective, cross-over study. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(4):333-339. Epub 2009/07/23.
12. Peterson LR, Liesenfeld O, Woods CW, et al. Multicenter evaluation of the LightCycler methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) advanced test as a rapid method for detection of MRSA in nasal surveillance swabs. *J Clin Microbiol.* 2010;48(5):1661-1666. Epub 2010/03/26.
13. Struelens MJ, Hawkey PM, French GL, Witte W, Tacconelli E. Laboratory tools and strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* screening, surveillance and typing: state of the art and unmet needs. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(2):112-119. Epub 2009/03/18.
14. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Revisión del documento

| Información de revisión del documento | |
|---------------------------------------|---|
| Doc. Rev. 4.0 07/2023 | <p>Se ha actualizado el apartado Precauciones y requisitos de manipulación para recomendar al usuario que se ponga en contacto con una autoridad local competente.</p> <p>Se ha cambiado el nombre del apartado Correlación de métodos por Rendimiento clínico con muestras clínicas.</p> <p>Se han incluido datos de rendimiento clínico al apartado Rendimiento clínico con muestras clínicas.</p> <p>Se ha incluido un enlace web al resumen del informe de seguridad y rendimiento.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</p> <p>Se han actualizado las direcciones del fabricante e importador.</p> <p>Se ha actualizado el apartado Marcas registradas y patentes, incluido el enlace.</p> <p>Se ha incluido el apartado Asistencia técnica.</p> <p>Se ha revisado para cumplir con los requisitos del reglamento IVDR.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p> |
| Doc. Rev. 5.0 02/2024 | <p>Se ha actualizado la información sobre peligros de los kits Lysis Kit 1.</p> <p>Se ha actualizado la marca cobas®.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p> |
| Doc. Rev. 6.0 06/2024 | <p>Se ha actualizado la información sobre peligros en los kits para la preparación de muestras.</p> <p>Se ha eliminado el símbolo "Rx Only" en la primera página.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p> |

Puede consultar el resumen del informe de seguridad y rendimiento en el siguiente enlace:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>