



Real-Time PCR Kits

Vitassay qPCR MRSA

PCR en tiempo real para la identificación y diferenciación específica de *Staphylococcus aureus* resistente a Metilina (MRSA) y/o sensible a Metilina (MSSA) y/o *Staphylococci* coagulasa negativos resistentes a Metilina (MRCoNS) en muestras clínicas.

Real-time PCR kit for the specific identification and differentiation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) and/or methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci* (MRCoNS) in clinical samples.





Uso previsto

Vitassay qPCR MRSA permite la detección cualitativa de DNA genómico específico de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (MSSA) y/o *Staphylococci* coagulasa negativa resistente a meticilina (MRCoNS) en colonias aisladas provenientes de hisopados nasales, faríngeos y perianales, sembrados en medio sólido cromogénico. Este producto está destinado para facilitar el diagnóstico de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, junto con los datos clínicos del paciente, factores de riesgo epidemiológico, y los resultados de otras pruebas de laboratorio.

Referencias

Vitassay qPCR MRSA, 8x8-well strip, low profile	7041066
Vitassay qPCR MRSA, 8x8-well strip, high profile	7042066

Reactivos suministrados

Para las referencias 7041066 y 7042066:

Código	Reactivo/Material	Color	Cantidad
7041S066A/ 7042S066A	MRSA 1 strips low/high profile	-	4 tiras de 8 pocillos
7041S066B/ 7042S066B	MRSA 2 strips low/high profile	-	4 tiras de 8 pocillos
7C066	MRSA Positive Control	rojo	1 vial
7001A	PCR grade water	blanco	1 vial x 1 mL
7002B	Resuspension buffer	verde	1 vial x 1,8 mL
7003N	Negative control	amarillo	1 vial x 1 mL
7004O	Tapas ópticas	-	8 tiras de 8 tapones

Material y equipamiento necesario, no proporcionado

- Sistema de recolección y transporte.
- Congeladores de laboratorio (-30°C a -10°C y/o ≤ -70°C).
- Kit de extracción de DNA
- Equipo de PCR a tiempo real
- Centrífuga para tubos de 1,5 mL
- Vórtex
- Micropipetas (1-20 µL, 20-200 µL)
- Puntas con filtro
- Guantes desechables sin polvo

Condiciones de Transporte y conservación

- El transporte y almacenaje de los kits puede realizarse de 2-40°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- El control positivo resuspendido debe ser almacenado a -20°C. Para evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación, se recomienda distribuir en alícuotas.
- Conservar los reactivos en oscuridad.

Resumen

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva aislada por primera vez en 1880 por el Dr Ogston. A pesar de ser uno de los primeros patógenos descritos, el *S. aureus* es una de las principales causas de infección en humanos, aunque se encuentra como comensal en la piel, glándulas y mucosas membranosas en personas asintomáticas. Se ha descrito que hasta un 20% de la población es portador asintomático de esta bacteria de manera habitual, y un 30% lo es de manera intermitente.

La importancia de este patógeno radica en la gran adaptabilidad al medio que posee, provocando un gran número de infecciones. Es causante de un gran número de infecciones nosocomiales adquiridas en hospitales y en instituciones y, dado que tiene una gran capacidad de diseminación por el torrente sanguíneo e infectividad en la piel y tejidos, puede resultar en infecciones respiratorias, cardíacas y óseas con consecuencias fatales.

Uno de los mayores retos que presenta este microorganismo es la rápida adquisición de mecanismos de virulencia, como aquellos responsables del síndrome del choque tóxico o el síndrome de la piel escaldada, así como la conocida resistencia a agentes antimicrobianos. En concreto, el conocido *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (o MRSA, por sus siglas en inglés), que fue descrito en la década de los 60, apareció al poco de empezar a utilizar el antibiótico meticilina en la práctica clínica habitual. Esta resistencia es adquirida por la transferencia horizontal del elemento génico móvil *SCCmec*, que codifica para los genes *mecA* y *mecC*, los cuales confieren resistencia a meticilina y, por extensión, a la mayoría de los antibióticos de la familia de los β -lactámicos.

En concreto, el gen *mecA* codifica para la proteína PBP2a (*acquired penicillin-binding protein*) que tiene una reactividad muy baja frente a los antibióticos β -lactámicos, permitiendo la síntesis de la pared celular en presencia de éstos. Por otro lado, *mecC* fue identificado más tarde y se sabe codifica para una proteína homóloga a PBP2a que también confiere resistencia antimicrobiana.

De acuerdo con la WHO, el MRSA es uno de los microorganismos con resistencia a antibióticos de mayor amenaza y su alta prevalencia, sobre todo asociada a la mortalidad, sigue preocupando.

La rápida identificación de MRSA es clave a la hora de administrar un tratamiento eficaz y aislar la infección. Los ensayos comúnmente utilizados para el diagnóstico de la infección por *S. aureus* se basan en métodos de aglutinación mediante anticuerpos anti-PBP2a, ensayos de fluorescencia o PCR convencionales. Sin embargo, muchos de ellos no son capaces de detectar las cepas resistentes producidas por la expresión del gen *mecC*. Para solventar ese problema, las PCR a tiempo real multiplex ofrecen una cómoda y rápida solución.

Principio de la prueba

Vitassay qPCR MRSA se basa en la amplificación a tiempo real de los genes *SA442 / CoA*, *SCCmec-orfX* junction y *mecA / mecC*. Tras la extracción de los ácidos nucleicos, la presencia de los patógenos se detecta mediante un aumento de la fluorescencia observada durante la reacción, tras la hidrólisis de la sonda fluorescente.

El ensayo está basado en la actividad 5' exonucleasa que utiliza dos *primers* y una sonda de hidrólisis fluorogénica para detectar la acumulación de la secuencia diana amplificada durante la reacción de PCR. Cuando la polimerasa comienza a extender los primers, la sonda es hidrolizada mediante su actividad exonucleasa 5'- 3' produciendo la separación espacial del fluoróforo y el *quencher*. El aumento de la señal fluorescente resultante es proporcional a la cantidad de producto amplificado en la muestra y es detectado mediante un equipo de PCR en tiempo real.

Vitassay qPCR MRSA, se trata de una prueba lista para usar que contiene en cada pocillo todos los reactivos necesarios en formato estabilizado para llevar a cabo la PCR a tiempo real. Además, un control interno permite la detección de una posible reacción de inhibición. Cada kit incluye dos tipos de tiras y cada una de ellas corresponde a un ensayo diferente. La primera tira contiene la mezcla de reacción multiplex para la detección de *SA442/CoA* (*S. aureus*) y *mecA/mecC*, así como el Control Interno (CI). La segunda tira contiene la mezcla de reacción multiplex para la detección de *SCCmec-orfX* junction así como el Control Interno (CI). Los canales de detección de las secuencias diana se describen a continuación:

Tira	Diana	Canal detección
A	Genes <i>SA442/CoA</i> (<i>S. aureus</i>)	FAM
	Genes <i>mecA/mecC</i>	ROX
	Control Interno (CI)	HEX, VIC o JOE (según el equipo utilizado)
B	Gen <i>SCCmec-orfX</i> junction	FAM
	Control Interno (CI)	HEX, VIC o JOE (según el equipo utilizado)

Precauciones

- Diseñado para uso profesional de diagnóstico *in vitro* (uso por personal de laboratorio clínico cualificado y capacitado).
- No utilizar el kit después de la fecha de caducidad.
- No mezclar reactivos de otros kits y/o diferentes lotes.
- No utilizar si el kit tiene signos de haber sido abierto o manipulado.
- No utilizar el kit si el material desecante de los diferentes sobres de aluminio está dañado o no está o si el aluminio protector está roto o dañado.
- No retirar el material desecante de los sobres de aluminio una vez abiertos.
- Cerrar los sobres de aluminio que protegen los tubos de reacción con el cierre zip después de cada uso (no retirar las bolsas de desecante del sobre). Elimine el exceso de aire de las bolsas antes de sellar.
- Se recomienda proteger los tubos de la humedad ya que una exposición prolongada puede afectar al rendimiento del producto.
- Trabajar siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio. Use ropa protectora, guantes desechables, gafas y mascarilla.
- No comer, beber o fumar en la zona de trabajo. Una vez finalizada la prueba lávese bien las manos.
- Es importante seguir un flujo de trabajo en el laboratorio unidireccional: Área de Extracción, Área de Amplificación y Detección. No retornar muestras, equipos ni reactivos a un área anterior. Utilice áreas separadas para la preparación de muestras de pacientes y controles.
- Las muestras y todo material en contacto con ellas se deben tratar como potencialmente infecciosos y se deben gestionar según la legislación nacional sobre residuos sanitarios y la legislación nacional de seguridad. Tome las precauciones necesarias durante la recogida, transporte, almacenamiento, tratamiento y eliminación de muestras.
- Se recomienda la descontaminación periódica de los equipos usados habitualmente, especialmente micropipetas, y de las superficies de trabajo.
- Asegurarse de utilizar un pocillo para la determinación de *SA442/CoA* (*S. aureus*) y *mecA/mecC*, y otro pocillo para la determinación de *SCCmec-orfX* junction. Preste atención para no mezclarlos durante todo el proceso.
- Evitar la posible contaminación de muestras y reactivos por parte del operador debido a que *S. aureus* se encuentra en el ambiente y además la mayoría de las personas sanas lo portan en la piel y las membranas mucosas (con mayor frecuencia en el área nasal).
- El producto Vitassay qPCR MRSA solamente se ha validado con los equipos mencionados en el Apartado Termocicladores compatibles de estas Instrucciones de uso.
- Consulte las hojas de seguridad, previa solicitud de las mismas.

Procedimiento

Toma, transporte y conservación de muestras

Extracción de DNA

Realizar el aislamiento de los ácidos nucleicos utilizando un sistema manual o automático compatible con ensayos de PCR en tiempo real. Realizar el pretratamiento de la muestra siguiendo las instrucciones del kit de extracción utilizado. Los siguientes sistemas de extracción han sido validados:

- Maxwell® RSC Blood DNA Kit, utilizando el Maxwell® 16 instrument (Promega).

Preparación del control positivo

Reconstituir el contenido liofilizado del MRSA Positive Control (tubo rojo) con 200 µL de agua ultrapura (PCR grade water, tubo blanco). Mezclar hasta conseguir una suspensión homogénea con ayuda del vórtex. Después del primer uso, dispensar en alícuotas para evitar repetidos ciclos de congelación-descongelación y almacenarlo a -20°C.

El control positivo contiene una gran cantidad de copias molde y el riesgo de contaminación es elevado. Por lo tanto, se recomienda abrir y manipular en un área del laboratorio separada de los otros componentes del kit y de las muestras a analizar.

Preparación de la reacción

- Preparar el número de pocillos necesarios incluyendo muestras y controles (un control positivo y uno negativo para cada uno de los ensayos).
- Retirar el sello de aluminio que protege las tiras.
- Pipetear 15 µL de la solución de resuspensión (tubo verde) y añadirlos en cada pocillo.
- Pipetear 5 µL de DNA extraído, Control Negativo (tubo amarillo) o Control positivo (tubo rojo) y añadirlos en los pocillos correspondientes.
- Cerrar los pocillos con las tapas ópticas suministradas. Se recomienda centrifugar brevemente.
- Colocar las tiras en el equipo de PCR a tiempo real.

Programación del termociclador

Configurar el termociclador siguiendo las siguientes instrucciones:

Etapa	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Activación de la polimerasa	95°C	2 min	1
Desnaturalización	95°C	10 seg	45
Hibridación/Elongación (Recogida de datos*)	60°C	50 seg	

Los datos de fluorescencia se deben recoger durante la etapa de hibridación/elongación (*) a través de los canales FAM (*SA442/CoA* y *SCCmec-orfX* junction), ROX (*mecA/mecC*), y HEX, JOE o VIC (Control Interno). Dependiendo del equipo a utilizar seleccionar el canal de detección adecuado.

Análisis e interpretación de resultados

El análisis de los resultados se realiza con el software propio del equipo de PCR en tiempo real de acuerdo con las instrucciones de uso del fabricante. Para verificar el correcto funcionamiento de la mezcla de amplificación compruebe la emisión de señal del control interno (CI).

Antes de analizar el resultado de las muestras clínicas debe validarse el resultado de los controles:

Control positivo

El control positivo utilizado en cada serie debe mostrar una curva de amplificación ($Ct \leq 35$) en los canales FAM (*SA442/CoA* y *SCCmec-orfX* junction), ROX (*mecA/mecC*), y HEX, JOE, o VIC (Control Interno).

Control negativo

El control negativo incluido en cada serie debe mostrar la ausencia de señal ($Ct > 35$ o no señal) de FAM (*SA442/CoA* y *SCCmec-orfX* junction), y ROX (*mecA/mecC*).

El Control Interno (CI) debería mostrar una señal de amplificación en los pocillos del control positivo y control negativo.

El experimento es inválido si hay ausencia de señal en el control positivo o hay señal de amplificación en el control negativo, exceptuando el canal HEX, JOE, o VIC que ha de mostrar amplificación (correspondiente al CI). En cualquiera de estos supuestos, el ensayo se debe de repetir.

Una vez validado el resultado de los controles, con la ayuda de la siguiente tabla, analizar los resultados de las muestras:

Control positivo	Control negativo	MRSA 1			MRSA 2		Interpretación
		<i>S. aureus</i> (SA442/CoA) (FAM)	<i>mecA/mecC</i> (ROX)	Control Interno (HEX)	<i>SCCmec-orfX junction</i> (FAM)	Control Interno (HEX)	
+	-	+	+	+/- ¹	+	+/- ¹	MRSA*
+	-	+	+	+/- ¹	-	+/- ¹	MSSA** y MRCoNS***
+	-	+	-	+/- ¹	+	+/- ¹	MSSA**
+	-	+	-	+/- ¹	-	+/- ¹	MSSA**
+	-	-	+	+/- ¹	-	+/- ¹	MRCoNS*** (resistencia metilina/oxacilina distinta a <i>S. aureus</i>)
+	-	-	-	+	-	+	Negativo
+	-	-	-	-	-	-	Invalido

**S. aureus* resistente a metilina

** *S. aureus* sensible a metilina

*** *Staphylococci* coagulasa negativo resistente a metilina.

(+) Positivo: Señal de amplificación (Ct ≤35)

(-) Negativo: No hay señal de amplificación (Ct >35 o no hay señal)

¹ En ocasiones, en el caso de las muestras clínicas, la detección del control interno no es necesaria, porque un alto número de copias de la diana puede causar una amplificación preferencial de los ácidos nucleicos específicos de la diana. El control interno (CI) muestra o no una señal de amplificación.

Si no se detecta curva de amplificación por encima del valor umbral (*threshold*) o la señal está por encima del valor de corte (mayor de 35), y el control interno si la presenta, la muestra se considera negativa.

Si las muestras negativas no muestran un resultado positivo para el control interno, se debe repetir el ensayo diluyendo la muestra original 1:10 o repetir la extracción de los ácidos nucleicos debido a posibles problemas causados por inhibidores de PCR.

En caso de un resultado de interpretación dudoso, se recomienda verificar la correcta realización de cada paso, revisar los parámetros y la forma sigmoidea de la curva. Si la situación no se resuelve, se recomienda repetir el ensayo, preferiblemente por duplicado.

Los resultados de la prueba deben ser evaluados por un profesional sanitario, en el contexto de la historia clínica, los síntomas clínicos y otras pruebas diagnósticas.

Control de Calidad

Con el fin de confirmar el correcto funcionamiento de la técnica de diagnóstico molecular, se incluye un Control Interno (CI) en cada reacción. Además, un control positivo y uno negativo se deben incluir en cada ensayo para una correcta interpretación de los resultados.

Características técnicas

Sensibilidad y especificidad clínica

En un primer estudio se evaluó la funcionalidad del kit con 105 muestras positivas de colonias aisladas a partir de la siembra de hisopos nasales, faríngeos y perianales humanos en medio sólido cromogénico. Estas muestras se tomaron de pacientes con sospecha clínica de colonización por *Staphylococcus aureus*, a partir de tejido del tracto respiratorio superior y de la zona del perineo. Tras el análisis rutinario mediante cultivo celular en medio agar selectivo para MRSA, las colonias positivas se resuspendieron y los remanentes se guardaron a -20°C hasta la extracción de los ácidos nucleicos para el posterior análisis. Del total de remanentes analizados, el kit de Vitassay fue capaz de detectar la presencia de *S. aureus* en todas menos en una de las

muestras. Por otro lado, noventa y nueve fueron identificadas como MRSA positiva, una fue identificada como MRCoNS, dos como MSSA, y tres como *S. aureus* sensible a meticilina y MRCoNS simultáneamente. Se concluyó una alta sensibilidad (0.97 (0.91-0.99)) para la detección de MRSA, MSSA y MRCoNS en muestras de colonias aisladas.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica fue determinada a partir de diluciones seriadas (1:10) de estándares de las diferentes dianas (10^7 - 10^1 copias/reacción). Este ensayo tiene un límite de detección de ≥ 100 copias de DNA por reacción para *S. aureus* (genes SA442 / CoA), ≥ 50 copias de DNA por reacción para genes *mecA* / *mecC* y ≥ 10 copias de DNA por reacción para SCC*mec-orfX* junction.

Especificidad analítica

La especificidad analítica para la detección de MRSA fue confirmada probando un panel compuesto por los siguientes microorganismos, no observándose reacciones cruzadas entre ninguna de las especies:

Pruebas de reactividad cruzada					
<i>Enterococcus gallinarum</i> (Bridge y Sneath 1982) Collins, Jones, Farrow, Kilpper-Balz y Schleifer 1984 VP tipo VanC	-	<i>Enterococcus faecium</i> cepa LMG16165 tipo VanA	-	<i>Enterobacter cloacae</i> -complex con gen NDM-7	-
<i>Enterococcus gallinarum</i> ENT20120142 tipos VanC y VanB	-	<i>Enterococcus avium</i> tipo VanA	-	<i>Enterobacter cloacae</i> con genes TEM-1 (non ESBL), SHV-12 (ESBL), CTX-M-15 (ESBL) y NDM-1	-
<i>E. faecalis</i> (Andrewes y Horder) Schleifer y Kilpper-Balz tipo VanB	-	<i>H. pylori</i> resistente a Claritromicina (23S rRNA A2147G)	-	<i>Enterobacter cloacae</i> con genes SHV-12 (ESBL), CTX-M-9 (ESBL) y OXA-48	-
<i>Enterococcus faecalis</i> tipo VanA	-	<i>H. pylori</i> resistente a Claritromicina (23S rRNA A2146G)	-	<i>Escherichia coli</i> con genes TEM-1 (non-ESBL) y IMP-1	-
<i>Enterococcus faecium</i> IOWA 1 tipo VanA	-	Aislado <i>Citrobacter freundii</i> -complex con genes KPC-3 y VIM-4	-	<i>Escherichia coli</i> con el gen OXA-244	-
<i>Enterococcus faecium</i> IOWA 2 tipo VanB	-	<i>Citrobacter braakii</i> con gen VIM-1	-	Aislado <i>Klebsiella pneumoniae</i> con genes TEM-1 (non-ESBL), SHV-1 (non-ESBL), CTX-M-2 (ESBL) y KPC-2	-
Aislado <i>Serratia marcescens</i> con el gen OXA-48	-	Aislado <i>Klebsiella pneumoniae</i> con genes SHV-1 (non-ESBL), KPC-3 y OXA-48	-		-

Reactividad analítica

La reactividad de Vitassay qPCR MRSA para MRSA se evaluó frente a Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain N315, MRSA sequence type 398, MRSA strain (*oxa^R*, PVL-positive, *spa* type t310), MRSA strain (*oxa^R*, PVL-positive, *spa* type t008), MRSA strain (*oxa^R*, PVL-neg), MRSA *spa* type t002, MRSA *spa* type t020, MRSA *spa* type t127, MRSA *spa* type t4545, MRSA (*mecC*, *spa* type t7734), mostrando resultados positivos.

La reactividad de Vitassay qPCR MRSA para MSSA + MRCoNS se evaluó frente a: *S. aureus* + *S. epidermidis* (oxa^R, PVL-pos); y MSSA ATCC 29213 (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach) + MRCoNS 634 (Meticillin-Resistant Coagulase-Negative *Staphylococci* 634), mostrando resultados positivos.

La reactividad de Vitassay qPCR MRSA para MRCoNS se evaluó frente a MRCoNS 634 (Meticillin-Resistant Coagulase-Negative *Staphylococci* 634), mostrando un resultado positivo.

La reactividad de Vitassay qPCR MRSA para MSSA se evaluó frente a MSSA (spa type t177), mostrando un resultado positivo.

Termocicladores compatibles

Vitassay qPCR MRSA ha sido validado en los siguientes equipos:

- Cobas z480 Analyzer (Roche)
- CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- AriaMx Real-Time PCR System (Agilent Technologies)
- DTprime Real-time Detection Thermal Cycler (DNA-Technology)
- DTlite Real-Time PCR System (DNA-Technology)
- Rotor-Gene® Q (Qiagen)¹

¹ Para el equipo Rotor-Gene® Q el producto debe ser reconstituido y trasvasado a los tubos específicos del equipo.

Para más información sobre la compatibilidad del termociclador basada en datos bibliográficos y los canales de detección más comunes, contactar con el fabricante (info@vitassay.com).

Los valores de exposición de algunos termocicladores se deben ajustar para su correcto funcionamiento. Establecer los valores de exposición de la siguiente manera:

Termociclador	Canal Vitassay	Valor de exposición
DTlite Real-Time PCR System (DNA-Technology)	FAM	500
	HEX	500
	ROX	500
	Cy5	500
DTprime Real-time Detection Thermal Cycler (DNA-Technology)	FAM	500*
	HEX	1000
	ROX	1000
	Cy5	1000

* En el caso de un resultado no esperado, sin amplificaciones o con un elevado ruido de fondo en el canal FAM, por favor, reduzca los valores de exposición indicados anteriormente hasta 150.

Limitaciones

- Todos los resultados obtenidos deben ser interpretados por un especialista junto con la información clínica y los hallazgos de laboratorio disponibles.
- Este ensayo ha sido validado con DNA extraído de colonias aisladas a partir de la siembra de hisopos nasales, faríngeos y perianales humanos en medio sólido cromogénico. El uso de otras muestras no se ha establecido.
- El correcto funcionamiento de la prueba depende de la calidad de la muestra; los ácidos nucleicos deben ser extraídos de forma adecuada de las muestras clínicas. Una forma inadecuada de recolección, almacenaje y/o transporte de las muestras puede dar lugar a resultados falsos negativos.
- Esta prueba no proporciona valores cuantitativos ni indica el número de organismos presentes. Esta prueba es un ensayo cualitativo.
- En ocasiones se pueden detectar ácidos nucleicos molde diana con un número de copias inferior al límite de detección, pero los resultados pueden no ser reproducibles.
- Existe la posibilidad de resultados falsos positivos debido a la contaminación cruzada con los diferentes patógenos, ya sea por el control positivo durante su reconstitución, por muestras que contienen altas concentraciones de los ácidos nucleicos molde diana o por contaminación por arrastre a partir de productos de PCR de reacciones anteriores.
- La detección puede verse afectada por varios factores y sus combinaciones que pueden conducir a resultados falsos negativos, que incluyen: a) inadecuado muestreo, envío, almacenamiento y manipulación de las muestras; b) errores de procedimiento (incluido la extracción de los ácidos nucleicos); c) Degradación de los ácidos nucleicos durante el envío, almacenamiento y/o preparación de muestras; d) la carga del microorganismo esté por debajo del límite de detección del

ensayo; e) presencia de inhibidores de la amplificación en tiempo real u otros tipos de interferencia (no se realizó un estudio de interferencia que evaluara el efecto de vacunas, terapias antivirales, antibióticos, quimioterapéuticos o fármacos inmunosupresores utilizados para prevenir la infección o durante el tratamiento de la misma); f) incumplimiento de las instrucciones y procedimientos sugeridos por el fabricante; g) mutaciones o polimorfismos en regiones de unión de cebadores o sondas que pueden afectar la detección de cepas nuevas o desconocidas.

- La detección de los ácidos nucleicos no implica la presencia de microorganismos viables y/o infecciosos ni que estos microorganismos sean los agentes causantes de los síntomas clínicos.
- Un resultado positivo con esta prueba no indica necesariamente un fracaso del tratamiento de erradicación ya que el DNA puede persistir. Un resultado negativo obtenido tras un resultado positivo anterior de la prueba puede indicar el éxito del tratamiento de erradicación o puede deberse a una colonización intermitente.
- Si los datos clínicos del paciente, las pruebas de laboratorio y los estudios epidemiológicos sugieren una posible infección con estos microorganismos, y se han descartado otras enfermedades, la posibilidad de un resultado falso negativo no debería desestimarse y se deberían realizar pruebas adicionales.
- Los valores de fluorescencia pueden variar debido a múltiples factores como el equipo de PCR, el sistema de extracción, el tipo de muestra y su tratamiento previo, entre otros.



Intended use

Vitassay qPCR MRSA allows the qualitative detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) and/or methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci* (MRCoNS) specific genomic DNA in colonies isolated from nasal, pharyngeal, and perianal swabs, seeded on solid chromogenic medium. This product is intended to facilitate the diagnosis of infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, together with the patient's clinical data, epidemiological risk factors, and the results of other laboratory tests.

References

Vitassay qPCR MRSA 8x8-well strip, low profile	7041066
Vitassay qPCR MRSA 8x8-well strip, high profile	7042066

Reagents provided

In references 7041066 and 7042066:

Reference	Reagent/Material	Colour	Amount
7041S066A/ 7042S066A	MRSA 1 strips low/high profile	-	4 x 8-well strip
7041S066B/ 7042S066B	MRSA 2 strips low/high profile	-	4 x 8-well strip
7C066	MRSA Positive Control	red	1 vial
7001A	PCR grade water	white	1 vial x 1 mL
7002B	Resuspension Buffer	green	1 vial x 1,8 mL
7003N	Negative control	yellow	1 vial x 1 mL
7004O	Optical caps	-	8 x 8-cap strip

Material and equipment required, not provided

- Collection and transport system.
- Laboratory freezers (- 30°C to - 10°C and/or ≤ -70°C).
- DNA extraction kit
- Real-time PCR instrument (thermocycler)
- Centrifuge for 1.5 mL tubes
- Vortex
- Micropipettes (1-20 µL, 20-200 µL)
- Filter tips
- Powder-free disposal gloves

Transport and storage

- The reagents and the test can be shipped and stored at 2-40°C until expiration date stated on the label.
- The resuspended positive control should be stored at -20°C. To avoid repeated freeze/thaw cycles, it is recommended to distribute the content in different aliquots.
- Keep all reagents in the darkness.

Summary

Staphylococcus aureus is a gram-positive bacterium first isolated in 1880 by Dr Ogston. Despite being one of the earliest pathogens described, *S. aureus* is a major cause of infection in humans. It is found, however, as a commensal in skin, glands, and membranous mucosa of asymptomatic individuals. Up to 20% of the population has been reported as asymptomatic carriers of this bacterium on a regular basis, and 30% are intermittent carriers.

The importance of this pathogen lies in its high adaptability to the environment, causing a large number of infections. *S. aureus* is responsible for many hospital- and institutionally-acquired nosocomial infections and due to its high capacity for bloodstream dissemination, and skin and tissue infectivity, it can result in respiratory, cardiac and bone infections with fatal consequences.

One of the major challenges of this microorganism is the rapid acquisition of virulence mechanisms, such as those responsible for toxic shock syndrome or scalded skin syndrome, as well as the well-known resistance to antimicrobial agents. In particular, the well-known methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), described in the 1960s, appeared shortly after the antibiotic methicillin was introduced into routine clinical practice. This resistance is acquired by horizontal transfer of the mobile gene element *SCCmec*. This cassette encodes for *mecA* and *mecC* genes, which confer resistance to methicillin and, by extension, to most antibiotics in the β -lactam family.

Specifically, *mecA* gene encodes for the acquired penicillin-binding protein PBP2a, which has a very low reactivity to β -lactam antibiotics, allowing cell wall synthesis in their presence. On the other hand, *mecC* was later identified and encodes for a PBP2a homologous protein that also confers antimicrobial resistance.

According to WHO, MRSA is one of the antibiotic-resistant microorganisms of major concern being especially associated with high prevalence and mortality.

Rapid identification of MRSA is key to implement effective treatment and isolation. The commonly performed assays for the diagnosis of *S. aureus* infection are based on agglutination methods using anti-PBP2a antibodies, fluorescence assays or conventional PCR. Nevertheless, many of them are unable to detect resistant strains produced by *mecC* gene expression. To overcome this matter, real-time PCR multiplexes offer a convenient and rapid solution.

Test principle

Vitassay qPCR MRSA is based on real-time amplification of the *SA442 / CoA*, *SCCmec-orfX* junction and *mecA / mecC* genes. After nucleic acids extraction, the pathogen presence is detected by an increase in fluorescence observed during the reaction, following hydrolysis of the fluorescent probe.

The assay is based on 5' exonuclease activity using two primers and a fluorogenic hydrolysis probe to detect the accumulation of the amplified target sequence during the PCR reaction. When the polymerase begins to extend the primers, the probe is hydrolysed by its 5'-3' exonuclease activity resulting in spatial separation of the fluorophore and the quencher. The resulting increase in fluorescent signal is proportional to the amount of amplified product in the sample and is detected by real-time PCR equipment.

Vitassay qPCR MRSA is a ready-to-use test that contains in each well all the necessary reagents in a stabilised format to perform real-time PCR. In addition, an internal control allows the detection of a possible inhibition reaction. Each kit includes two types of strips, each one corresponding to a different assay. The first strip contains the multiplex reaction mix for the detection of *SA442/CoA* (*S. aureus*) and *mecA/mecC* as well as the Internal Control (IC). The second strip contains the multiplex reaction mix for the detection of *SCCmec-orfX* junction as well as the Internal Control (IC). The detection channels of the target sequences are described as follows:

Strip	Target	Detection channel
A	<i>SA442/CoA</i> (<i>S. aureus</i>) genes	FAM
	<i>mecA/mecC</i> genes	ROX
	Internal Control (IC)	HEX, VIC, or JOE depending on the equipment used)
B	<i>SCCmec-orfX</i> junction gene	FAM
	Internal Control (IC)	HEX, VIC, or JOE (depending on the equipment used)

Precautions

- For professional *in vitro* diagnostic use (use by qualified and trained clinical laboratory personnel).
- Do not use after expiration date.
- Do not mix components from different kits and/or lots.
- Do not use if package is open or damaged.
- Do not use the kit if the desiccant from the different reagents is not present or is broken or if the foil has been broken or damaged.
- Do not remove desiccant from reagent pouches once is open.
- Close protective pouches of reagents promptly with the zip seal after each use (do not remove the desiccant from the pouches). Remove excess air from the bags before sealing.
- Protect the kit against humidity. Prolonged exposure to humidity may affect product performance.
- Follow Good Laboratory Practices. Wear protective clothing, use disposal gloves, goggles, and mask.
- Do not eat, drink, or smoke in the working area. Once the test is completed wash your hands thoroughly.
- The laboratory process must be one-directional, it should begin in the Extraction Area and then move to the Amplification and Detection Areas. Do not return samples, equipment, and reagents to the area in which the previous step was performed. Use separate areas for the patient samples and controls preparation.
- Specimens and reagents/materials that have been exposed to them must be treated as potentially infectious and they must be managed according to the national safety legislation and national health waste legislation. Take necessary precautions during the collection, transport, storage, treatment, and disposal of samples.
- Regular decontamination of commonly used equipment is recommended, especially micropipettes and work surfaces.
- Make sure to use one well for the determination of *SA442/CoA* (*S. aureus*) and *mecA/mecC*, and another well for the determination of *SCCmec-orfX* junction. Pay attention not to mix them during the whole process.
- Avoid potential contamination of samples and reagents by the operator due to *S. aureus* is found in the environment and is also carried by most healthy individuals on the skin and mucous membranes (most often the nasal area).
- The product Vitassay qPCR MRSA has only been validated with the equipment mentioned in Section Compatibles real-time PCR equipment of this Instructions for Use.
- Refer to Safety data sheets, available on request.

Procedures

Specimen collection, transport, and conservation

DNA extraction

For nucleic acid isolation, it is recommended to use your optimized manual or automatic system compatible with real-time PCR technology. For the sample's pretreatment follow the instructions for use of the extraction kit used. The following extraction kits have been validated:

- Maxwell® RSC Blood DNA Kit, using the Maxwell® 16 instrument (Promega).

Positive control preparation

Reconstitute the lyophilized MRSA Positive Control (red tube) with 200 µL of PCR grade water (white tube). To ensure a complete resuspension, vortex the tube thoroughly. After first use, dispense into aliquots to avoid multiple freeze-thaw cycles, and store them at -20°C.

This component contains a high-copy number template and entails a very significant contamination risk. Therefore, we recommend opening and manipulating it in a separate area of the laboratory away from the other components and samples.

Reaction setup

- Separate the number of required reactions including samples and controls. Remember that one positive and one negative control must be included in each run for each assay.
- Peel off protective aluminium seal from the strips.
- Pipette 15 µL of Resuspension buffer (green tube) and add them into each well.
- Pipette 5 µL of DNA sample, negative control (yellow tube) or positive control (red tube) and add them into the corresponding wells.
- Cover the wells with the optical caps provided. It is recommended spin down briefly.
- Place the strips in the Real-time PCR instrument.

Programme your thermocycler

Set your thermocycler following the conditions below:

Step	Temperature	Time	Cycles
Polymerase activation	95°C	2 min	1
Denaturation	95°C	10 sec	45
Annealing/Extension (Data collection*)	60°C	50 sec	

Set the fluorescence data collection during the annealing/extension step (*) through the FAM (*SA442/CoA* and *SCCmec-orfX* junction), ROX (*mecA/mecC*), and HEX, JOE, or VIC (Internal Control). Depending on the equipment used select the proper detection channel.

Analysis and interpretation of results

The results analysis is done by the software itself of the used real-time PCR system following manufacturer's instructions. To verify the correct operation of the amplification mix, check the internal control (IC) signal emission.

For a valid diagnostic test run, the following control conditions must be met:

Positive control

The positive control used in each run must show an amplification curve ($Ct \leq 35$) in FAM (*SA442/CoA* and *SCCmec-orfX* junction), ROX (*mecA/mecC*), and HEX, JOE, or VIC (Internal Control) channels, validating the reaction.

Negative control

The negative control included in each run must show the signal's absence ($Ct > 35$ or no signal) in FAM (*SA442/CoA* and *SCCmec-orfX* junction), and ROX (*mecA/mecC*) channels, validating the reaction.

The Internal Control (IC) should show an amplification signal in positive control and negative control wells.

The experiment is invalid if there is no signal in the positive control or there is amplification signal in the negative control, except for the HEX, JOE, or VIC channel which must show amplification (corresponding to the IC). In either case, the assay must be repeated.

The clinical samples test results assessment should be performed once controls' results have been validated. The result interpretation is summarized in the following table:

Positive control	Negative control	MRSA 1			MRSA 2		Interpretation
		<i>S. aureus</i> (<i>SA442/CoA</i>) (FAM)	<i>mecA/mecC</i> (ROX)	Internal control (HEX)	<i>SCCmec-orfX</i> junction (FAM)	Internal control (HEX)	
+	-	+	+	+/- ¹	+	+/- ¹	MRSA*
+	-	+	+	+/- ¹	-	+/- ¹	MSSA** y MRCoNS***
+	-	+	-	+/- ¹	+	+/- ¹	MSSA**
+	-	+	-	+/- ¹	-	+/- ¹	MSSA**
+	-	-	+	+/- ¹	-	+/- ¹	MRCoNS*** (methicillin/oxacillin resistance different than <i>S. aureus</i>)
+	-	-	-	+	-	+	Negative
+	-	-	-	-	-	-	Invalid

* Methicillin-resistant *S. aureus*

** Methicillin-sensitive *S. aureus*

***Methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci*

(+) Positive: Amplification signal (Ct ≤35)

(-) Negative: No amplification signal (Ct >35 or no signal)

¹ Sometimes, in the case of clinical samples, detection of the internal control is not necessary because a high target copy number of target can lead to preferential amplification of target-specific nucleic acids. The Internal Control (IC) shows or not an amplification signal.

If no amplification curve is detected above the threshold value or the signal is above the cut-off value (greater than 35) and the internal control is present, the sample is considered negative.

If the negative samples do not show a positive result for the internal control, they should be retested from the diluted original sample 1:10 or the nucleic acid extraction must be repeated due to possible problems caused by PCR inhibitors.

In case of a doubtful interpretation result, it is recommended to verify the correct performance of each step, to check the parameters and the sigmoid shape of the curve. If the situation is not resolved, it is recommended to repeat the test, preferably in duplicate.

The test results should be evaluated by a healthcare professional, in the context of the medical history, clinical symptoms and other diagnostic tests.

Quality Control

To confirm the appropriate performance of the molecular diagnostic technique, an Internal Control (IC) is included in each reaction. Moreover, a positive and a negative control must be included in each assay to interpret the results correctly.

Performance evaluation

Clinical sensitivity and specificity

A first study was conducted to evaluate the kit's functionality with 105 positive samples of colonies isolated from human nasal, pharyngeal and perianal swabs on solid chromogenic medium. These samples were taken from patients with clinical suspicion of *Staphylococcus aureus* colonization, from upper respiratory tract tissue and from the perineal area. After routine analysis by cell culture on MRSA-selective agar medium, positive colonies were resuspended and remnants were stored at -20°C until extraction of nucleic acids for subsequent analysis. Of the total number of leftovers tested, Vitassay kit was able to detect the *S. aureus* presence in all but one of the samples. On the other hand, ninety-nine samples were identified as MRSA positive, one was identified as MRCoNS, two were identified as MSSA positive, and three were identified as methicillin-sensitive *S. aureus* and MRCoNS simultaneously. A high sensitivity (0.97 (0.91-0.99)) was concluded for the detection of MRSA, MSSA and MRCoNS in colony isolates.

Analytical sensitivity

The analytical sensitivity was determined by analysis of 10-fold dilution series of standards from the different targets (10^7 to 10^1 copies/reaction). This assay has a detection limit of ≥100 DNA copies per reaction for *S. aureus* (SA442/CoA genes), ≥50 DNA copies per reaction for *mecA/mecC* genes and ≥10 DNA copies per reaction for SCC*mec-orfX* junction.

Analytical specificity

The analytical specificity for the MRSA detection was tested within the panel of following microorganisms, where no cross-reactivity was observed between any of the species:

Cross-reactivity assay					
VanC type- <i>Enterococcus gallinarum</i> (Bridge and Sneath 1982) Collins, Jones, Farrow, Kilpper-Balz and Schleifer 1984 VP	-	VanA- type <i>Enterococcus faecium</i> LMG16165 strain	-	<i>Enterobacter cloacae</i> -complex with NDM-7 gene	-
VanC and VanB- types <i>Enterococcus gallinarum</i> ENT20120142	-	VanA-type <i>Enterococcus avium</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i> with TEM-1 (non ESBL), SHV-12 (ESBL), CTX-M-15 (ESBL) and NDM-1 genes	-
VanB-type <i>E. faecalis</i> (Andrewes and Horder) Schleifer and Kilpper-Balz	-	<i>H. pylori</i> Clarithromycin resistant (23S rRNA A2147G)	-	<i>Enterobacter cloacae</i> with SHV-12 (ESBL), CTX-M-9 (ESBL) and OXA-48 genes	-
VanA-type <i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>H. pylori</i> Clarithromycin resistant (23S rRNA A2146G)	-	<i>Escherichia coli</i> with TEM-1 (non-ESBL) and IMP-1 genes	-
VanA- type <i>Enterococcus faecium</i> IOWA 1	-	<i>Citrobacter freundii</i> -complex isolate with KPC-3 and VIM-4 genes	-	<i>Escherichia coli</i> with OXA-244 gene	-
VanB- type <i>Enterococcus faecium</i> IOWA 2	-	<i>Citrobacter braakii</i> with VIM-1 gene	-	<i>Klebsiella pneumonia</i> isolate with TEM-1 (non-ESBL), SHV-1 (non-ESBL), CTX-M-2 (ESBL), and KPC-2 genes	-
<i>Serratia marcescens</i> isolate with OXA-48 gene	-	<i>Klebsiella pneumonia</i> isolate with SHV-1 (non-ESBL), KPC-3, and OXA-48 genes	-		

Analytical reactivity

The Vitassay qPCR MRSA kit's reactivity for MRSA was evaluated against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain N315, MRSA sequence type 398, MRSA strain (*oxa^R*, PVL-positive, *spa* type t310), MRSA strain (*oxa^R*, PVL-positive, *spa* type t008), MRSA strain (*oxa^R*, PVL-neg), MRSA *spa* type t002, MRSA *spa* type t020, MRSA *spa* type t127, MRSA *spa* type t4545, MRSA (*mecC*, *spa* type t7734), showing positive results.

The Vitassay qPCR MRSA kit's reactivity for MSSA + MRCoNS was evaluated against: *S. aureus* + *S. epidermidis* (*oxa^R*, PVL-pos); and MSSA ATCC 29213 (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach) + MRCoNS 634 (Meticillin-Resistant Coagulase-Negative *Staphylococci* 634), showing positive results.

The Vitassay qPCR MRSA kit's reactivity for MRCoNS was evaluated against MRCoNS 634 (Meticillin-Resistant Coagulase-Negative *Staphylococci* 634), showing positive results.

The Vitassay qPCR MRSA kit's reactivity for MSSA was evaluated against MSSA (*spa* type t177), showing positive results.

Compatibles real-time PCR equipment

Vitassay qPCR MRSA has been validated on the following equipment:

- Cobas z480 Analyzer (Roche)
- CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- AriaMx Real-Time PCR System (Agilent Technologies)
- DTprime Real-time Detection Thermal Cycler (DNA-Technology)
- DTlite Real-Time PCR System (DNA-Technology)
- Rotor-Gene® Q (Qiagen)¹

¹ For Rotor-Gene® Q thermocycler the product should be reconstituted following the procedure and transferred into specific Rotor-Gene® Q tubes.

For more information regarding thermocycler compatibility based on bibliographic data and the most common detection channels contact the manufacturer (info@vitassay.com).

The exposure values of some thermocyclers must be adjusted for proper operation. Set exposure values as follows:

Thermocycler	Vitassay channel	Exposure values
DTlite Real-Time PCR System (DNA-Technology)	FAM	500
	HEX	500
	ROX	500
	Cy5	500
DTprime Real-time Detection Thermal Cycler (DNA-Technology)	FAM	500*
	HEX	1000
	ROX	1000
	Cy5	1000

*If result in FAM channel is not as expected, there are no amplifications or high background noise is observed, please lower the exposure values indicated above to 150.

Limitations

- All obtained results must be interpreted by a specialist together with other clinical information and laboratory findings available to the physician.
- This assay has been validated with DNA extracted from isolated colonies from human nasal, pharyngeal and perianal swabs plated onto chromogenic solid medium. The use of other samples has not been established.
- The test quality depends on the sample's quality; proper nucleic acids from clinical specimens must be extracted. Unsuitable collection, storage and/or transport of specimens may give false negative results.
- This test does not provide quantitative values nor indicate the number of organisms present. This is a qualitative test.
- Occasionally, target template nucleic acids with a copy number below the detection limit can be detected, but the results may not be reproducible.
- There is a possibility of false positive results due to cross-contamination with the different pathogens, either by the positive control reconstitution, by samples containing high concentrations of target nucleic acids or by carryover contamination from PCR products from previous reactions.
- Detection may be affected by several factors and their combinations which may lead to false negative results, including a) inadequate specimen sampling, shipping, storage, handling; b) procedural errors (including nucleic acids extraction); c) nucleic acids degradation during specimen shipping, storage, and/or preparation; d) microorganism load is below the limit of detection for the assay; e) the presence of Real-Time amplification inhibitors or other types of interference (an interference study evaluating the effect of vaccines, antiviral therapeutics, antibiotics, chemotherapeutics or immunosuppressant drugs used to prevent the infection or used during the treatment of the infection was not performed); f) failure to follow the manufacturer's instructions and procedures; g) mutations or polymorphisms in primer or probe binding regions may affect the detection of new or unknown strains.
- The detection of nucleic acids does not imply the presence of viable and/or infectious microorganisms or that these microorganisms are the causative agents of clinical symptoms.

- A positive result with this test does not necessarily indicate a failure of eradication treatment, as DNA may persist. A negative result obtained after a previous positive test result may indicate successful eradication treatment or may be due to intermittent colonization.
- If the patient's clinical data, laboratory tests and epidemiological studies suggest possible infection by these microorganisms, and other diseases have been discarded, a false negative result might not be dismissed, and additional tests should be performed.
- Fluorescence values may vary due to multiple factors such as PCR equipment, extraction system, sample type, and pretreatment, among others.

Bibliography/Bibliografía












1. Kim C, et al. (2012) Properties of a novel PBP2A protein homolog from *Staphylococcus aureus* strain LGA251 and its contribution to the β -lactam-resistant phenotype. *J Biol Chem*. Oct 26;287(44):36854-63.
2. Kourtis AP, Hatfield K, Baggs J, et al. (2019) Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*;68:214–219.
3. Lakhundi S, Zhang K. (2018) Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev*. Sep 12;31(4):e00020-18.
4. Lee AS, de Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, Harbarth S. (2018) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers*. May 31;4:18033.
5. Mitevska E, Wong B, Surewaard BGJ, Jenne CN. (2021) The Prevalence, Risk, and Management of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection in Diverse Populations across Canada: A Systematic Review. *Pathogens*. Mar 25;10(4):393.
6. Palavecino EL. (2020) Rapid Methods for Detection of MRSA in Clinical Specimens. *Methods Mol Biol*.;2069:29-45.
7. Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA. (2014) The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*. Jan;22(1):42-7.
8. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. (2005) The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 5:751–762.
9. World Health Organization (WHO). (2017) Prioritization of Pathogens to Guide Discovery, Research and Development of New Antibiotics for Drug-Resistant Bacterial Infections, Including Tuberculosis.

Trademarks/Marcas registradas

All trademarks that may appear in this package insert are the property of their respective owners.

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

Symbols for components and reagents / Símbolos para reactivos y productos

	<i>In vitro</i> diagnostic device <i>Producto para diagnóstico in vitro</i>		Contains sufficient for <n> test <i>Contiene <n> test</i>		Catalogue number <i>Número de referencia</i>		Keep dry <i>Almacenar en lugar seco</i>		Manufacturer <i>Fabricante</i>
	Consult instructions for use <i>Consultar las instrucciones de uso</i>		Batch code (yyyy-xxx) <i>Número de lote (yyyy-xxx)</i>		Use by (yyyy-mm-dd: year-month-day) <i>Fecha de caducidad (yyyy-mm-dd: año-mes-día)</i>		Temperature limitation <i>Limitación de temperatura</i>		Volume <i>Volumen</i>
	CE marking <i>Marcado CE</i>								

Change Control / Control de cambios		
Version Nº / Versión Nº	Changes / Cambios	Date / Fecha
00	Original versión/ <i>Versión original</i>	11/05/2022
01	New format, editorial improvement, limitation of the type of samples in the intended use and limitation of validated extraction kits in line with the update of clinical evaluations, adjusted Ct value and addition of information / <i>Nuevo formato, mejora editorial, limitación del tipo de muestras en el uso previsto y limitación de kits de extracción validados en consonancia con la actualización de las evaluaciones clínicas, valor Ct ajustado y adición de información.</i>	27/10/2023

Real-Time PCR Kits



VA Vitassay

identifying pathogens worldwide

Vitassay Healthcare, S.L.U

Parque Tecnológico Walqa

Ctra. N-330 Km. 566

22197 Huesca (Spain)

Ph. (+34) 974 001 193

info@vitassay.com

www.vitassay.com

F09-81 Rev.00