Załącznik nr 1

Staphylo Rapid Test

IVD CE

Szybki test lateksowy do wykrywania i identyfikacji koagulazy i/lub białka A szczepów *Staphylococcus* (*S. aureus*) z pierwotnych hodowli

Karta techniczna

PRZEZNACZENIE

Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro przeznaczony do wykonywania szybkiego testu aglutynacji lateksowej w celu wykrywania i identyfikacji koagulazy i/lub białka A szczepów *Staphylococcus* (*S. aureus*) z pierwotnych hodowli uzyskanych z próbek pochodzenia ludzkiego. Wyniki badań należy zawsze interpretować w odniesieniu do kontekstu klinicznego. Tylko do użytku profesjonalnego.

Forma	Nr kat.	Opakowanie
zestaw 2 x 50 oznaczeń	CSI087245	2 fiolki x 1.5 ml

ZNACZENIE KLINICZNE

Gronkowce powszechnie występują na skórze lub błonach śluzowych jako flora saprofityczna, ale często mogą być powiązane z infekcjami oportunistycznymi. W szczególności *S. aureus* jest czynnikiem etiologicznym wielu chorób septycznych. Niektóre szczepy gronkowców wytwarzające enterotoksyny są przyczyną zatruć pokarmowych, a ostatnio egzotoksynę *S. aureus* powiązano z „zespołem wstrząsu toksycznego". Zatem duże znaczenie ma szybka identyfikacja *S. aureus*. Tradycyjne metody identyfikacji szczepów przypuszczalnie patologicznych opierają się na wykryciu koagulazy (test probówkowy na obecność wolnej koagulazy lub test szkiełkowy na obecność związanej koagulazy) lub obserwacji wzrostu bakterii w postaci fermentacji mannitolu, produkcji DNazy itp. Jednak w tych metodach wymagana jest inkubacja przez 1 lub więcej dni, dlatego opracowano testy identyfikacji lateksowej, za pomocą których można szybko wykazać obecność koagulazy i białka A. Test Sclavo Staphylo Rapid to kompletny zestaw do identyfikacji obecności związanej koagulazy i/lub białka A na powierzchni komórki badanego szczepu bezpośrednio z hodowli pierwotnej w ciągu kilku minut, bez konieczności stosowania innych materiałów lub narzędzi.

ZASADA DZIAŁANIA

Próbkę rozprowadza się na kółku karty reakcyjnej, w którym uprzednio umieszczony jest lateks uczulony ludzkim fibrynogenem i IgG. Jeżeli w próbce obecny jest czynnik zlepiający (clumping factor) i/lub białko A, spowoduje to widoczną aglutynację (zlepianie).
Zestaw Sclavo składa się z cząstek lateksowego polistyrenu pokrytych fibrynogenem (w celu wiązania z koagulazą) i ludzką IgG (w celu wiązania z białkiem A) oraz nieuczulonego lateksu kontrolnego (w celu wykrycia wszelkich nieswoistych reakcji). Kiedy kolonie *Staphylococcus aureus* zostaną zmieszane w dwóch sąsiednich polach reakcyjnych z uczulonym odczynnikiem lateksowym i lateksem kontrolnym, w przypadku pierwszej nastąpi szybka i intensywna widoczna aglutynacja, natomiast w przypadku drugiej nie wystąpi żadna widoczna reakcja (potwierdzająca specyficzność reakcji).

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

= Temperatura przechowywania 2-8 °C

Zamknięte odczynniki przechowywane w temperaturze 2–8°C i bez dostępu światła, zachowują stabilność do daty ważności wydrukowanej na etykiecie. Należy unikać zamarzania i skażenia bakteryjnego.
Testy stabilności powtórzone na trzech różnych partiach potwierdziły ważność przez 24 miesięce przy przechowywaniu w temperaturze 2-8° C. Niewielkie różnice w składzie pomiędzy partiami nie mają wpływu na wynik testu.

KOMPONENTY ZESTAWU

Odczynnik L - 1 x 1,5 ml
Siatka lateksu uczulona ludzkim fibrynogenem i IgG. Gotowa do użycia zawiesina.
Zawiera azydek sodu 0,9 g/l jako środek konserwujący.
Lateks Kontrolny - 1 x 1,5 ml
Nieuczulony lateks. Gotowa do użycia zawiesina.
Zawiera azydek sodu 0,9 g/l jako środek konserwujący.
Plastikowe patyczki 50 szt.
Jednorazowe czarne karty reakcyjne 10 szt.
Odczynnik zawiera azydek sodu, który może reagować z ołowiem i miedzią w instalacjach wodnokanalizacyjnych, tworząc wybuchowe azydki metali. Po usunięciu przepłukać dużą ilością wody, aby zapobiec tworzeniu się azydku.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Zestaw ten zawiera komponenty pochodzenia ludzkiego. Zostały one zbadane na obecność antygenu powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B oraz przeciwciał anty-HCV i anty-HIV1/HIV-2 i uzyskały wynik ujemny. Zaleca się jednak postępowanie z odczynnikami zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną.
2. Próbki do badań mogą zawierać organizmy chorobotwórcze i dlatego należy je zawsze traktować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności.
3. Odczynniki i odpady należy utylizować zgodnie ze wspólnotowymi przepisami dotyczącymi odpadów lub obowiązującymi przepisami krajowymi lub regionalnymi.
4. Oprócz wszelkich oświadczeń o ryzyku związanych ze składnikami aktywnymi, odczynniki mogą zawierać składniki nieaktywne, takie jak konserwanty i detergenty. Całkowite stężenie tych składników jest poniżej limitów określonych w Rozporządzeniu 1272/2008 WE z późniejszymi zmianami i uzupełnieniami.
5. Zaleca się postępowanie z odczynnikami zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną i stosowanie odpowiednich środków ochrony osobistej.
6. Zestaw powinien być używany wyłącznie przez wykwalifikowany i odpowiednio przeszkolony personel laboratoryjny.
7. Diagnozy przeprowadzać wyłącznie przez autoryzowany i wykwalifikowany personel.
8. Przestrzegać krajowych dyrektyw dotyczących bezpieczeństwa pracy i zapewnienia jakości.
9. Należy używać sprzęt zgodny z obowiązującymi przepisami.
10. Należy stosować laboratoryjne standardy ochrony przed infekcją

Zgłaszanie poważnych incydentów

Proszę poinformować producenta (za pośrednictwem dystrybutora) oraz właściwy organ państwa członkowskiego Unii Europejskiej, w którym użytkownik i/lub pacjent ma swoją siedzibę, o przypadkach poważnych incydentów, które miały miejsce w związku z użyciem testu. W przypadku innych jurysdykcji zgłoszenia poważnych incydentów należy sporządzać zgodnie z wymogami regulacyjnymi rodzimego państwa członkowskiego. Zgłaszanie poważnych incydentów, pomaga uzyskać więcej informacji na temat bezpieczeństwa używanego medycznego wyrobu do diagnostyki in vitro.

PROCEDURA

Kontrola jakości

Kontrolę jakości należy przeprowadzać za każdym razem, gdy używana jest nowa partia produktu, stosując tę samą procedurę, co w przypadku próbek.
Do kontroli jakości użyć następujących szczepów bakterii
Kontrola dodatnia MSSA: *S. aureus* ATCC 25923
Kontrola dodatnia MRSA: *S. aureus* ATCC 43300
Kontrola ujemna: *S. epidermidis* ATCC 12228
Jeżeli w momencie użycia lateks jest ziarnisty lub samoaglutynujący, NIE NALEŻY GO STOSOWAĆ.

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Odczynniki lateksowe są gotowe do użycia. Doprowadzić je do temperatury pokojowej i powoli mieszać do uzyskania jednorodnej zawiesiny. Po otwarciu odczynnik jest stabilny aż do daty ważności, jeśli jest przechowywany w warunkach podanych w paragrafie „Przechowywanie i stabilność". Unikać narażenia na znaczne zmiany temperatury.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

Do wykonania testu należy wybrać kolonie dobrze izolowane z pierwotnych lub wtórnych hodowli. Powinny być okrągłe (średnica 2-4 mm), gładkie i lekko wypukłe. Sugeruje się barwienie metodą Grama w celu sprawdzenia czystości i morfologii próbki. Testu nie zaleca się przeprowadzać w przypadku wzrostu kolonii na agarze selektywnym o wysokim stężeniu soli ze względu na trudności w prawidłowym pobraniu próbki i możliwość wystąpienia fałszywej aglutynacji. ZALECA SIĘ STOSOWANIE ŚWIEŻYCH KULTUR (maks. 18-24 godz.), najlepiej wyhodowanych na podłożach wzbogacających typu agar z krwią lub agar odżywczy. Więcej informacji na temat pobierania i próbek można znaleźć w literaturze specjalistycznej.

PROCEDURA Technika wykonania

1. Dla każdej próbki dodać do dwóch oddzielnych kółek na karcie reakcyjnej 1 kroplę swobodnie spadającą Odczynnika L i 1 kroplę swobodnie spadającą Lateksu Kontrolnego (trzymając zakraplacz pionowo).
2. Pobrać próbkę (3-4 kolonie) za pomocą plastikowego patyczka i dokładnie zemulgować ją z kroplą Odczynnika L (nie pocierać zbyt mocno, aby nie uszkodzić powierzchni karty).
   Ostrzeżenie: nie pobierać wraz z kolonią podłoża hodowlanego, może to zakłócić odczyt reakcji.
3. Powtórzyć krok 2 również z Lateksem Kontrolnym.
4. Używając czystego patyczka do każdego kółka, ostrożnie wymieszać i rozprowadzić mieszaninę reakcyjną. Wyrzucić zużyte patyczki.
5. Pochylać i obracać kartą. Obserwować każde kółko pod kątem wystąpienia aglutynacji (zlepiania). Specyficzne aglutynacje pojawiają się w ciągu 60 sekund.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wynik dodatni: widoczna aglutynacja, przy braku mlecznego tła, w kółku z Odczynnikiem L i brakiem aglutynacji w kółku z Lateksem Kontrolnym. Na ogół reakcja jest natychmiastowa. Późniejsze aglutynacje, po 60 sekundach, należy zignorować.
Reakcja dodatnia wskazuje na obecność koagulazy i/lub białka A w badanym szczepie.
Wynik ujemny: brak aglutynacji zarówno z Odczynnikiem L, jak i Lateksem Kontrolnym. W przypadku, gdy nie powstała pełna emulsja, mogą pojawić się ślady ziarnistości.

IVD CE

Staphylo Rapid Test

Szybki test lateksowy do wykrywania i identyfikacji koagulazy i/lub białka A szczepów *Staphylococcus* (*S. aureus*) z pierwotnych hodowli

Karta techniczna

Uwaga: Niektóre szczepy *Staphylococcus* mogą być trudne do emulgowania.
Należy o tym pamiętać podczas odczytywania wyników, ponieważ lateks może być ziarnisty lub włóknisty nawet przy braku reakcji aglutynacji
Uwaga: wyrzucić wszystkie zużyte materiały zgodnie z procedurą usuwania substancji zakaźnych.

OGRANICZENIA PROCEDURY

- Należy badać wyłącznie dobrze izolowane, czyste kolonie (mieszane kolonie mogą dawać wyniki fałszywie dodatnie lub ujemne)
- Kolonie starsze niż 30 godzin mogą powodować zjawisko samoaglutynacji
- Obecność reakcji nitkowatych nie zawsze świadczy o reakcji dodatniej, w wątpliwych przypadkach należy przeprowadzić potwierdzające badania biochemiczne
- Wszystkie koagulazo-dodatnie szczepy gronkowca reagują w teście Staphylorapid, z tego powodu nie jest możliwe rozróżnienie pomiędzy *S. aureus* i *S. intermedius* i *S. hyicus* (które są rzadkie w próbkach ludzkich).
- Niektóre paciorkowce, inne mikroorganizmy posiadające czynniki wiążące immunoglobuliny i niektóre szczepy *Escherichia coli* mogą powodować nieswoistą aglutynację. Z tego powodu zaleca się wykorzystanie do testu kolonii, które na podstawie morfologii na podłożu hodowlanym i analizy mikroskopowej zostały już zidentyfikowane jako gronkowce.

WYNIKI ANALITYCZNE

Test Sclavo Staphylo Rapid przeprowadzono na 227 szczepach (zidentyfikowanych zarówno technikami molekularnymi, jak i biochemicznymi) wyizolowanych z hodowli na agarze z krwią.
Osiągnięto następujące wyniki:

CZUŁOŚĆ		
MSSA	139/139	100%
MRSA	72/75	98%
SWOISTOŚĆ		
STAPH (NIE-AUREUS)	0/13	100%

Literatura

1. Essers, L. and Radebold, K. (1980). Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a latex agglutination test. *J. clin. Microbiol.*, 12, 641.
2. Jeljaszewicz, J., Switalski, L.M., *et al* (1983). Staphylococci and Staphylococcal infections, Vol. 2. Edited by Easmon, C.S.F. and Adlam, C. Academic Press, London, pagine 525-557.
3. Kloos, W.E. and Jorgensen, J.H. (1985). Manual of Clinical Microbiology, 4th Ed., Edited by Lenette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J. and Shadomy, H.J. American Society for Microbiology, Washington, D.C. pagine 143-153.
4. Langone, J.J. (1982). Protein A of Staphylococcus aureus and Related Immunoglobulin Receptors Produced by Streptococci and Pneumonococci. Advances in Immunology, 32, 157.
5. Myhre, E.B. and Kronvall, G. (1980). Demonstration of specific Binding Sites for Human Serum Albumin in Group C and G Streptococci. Inf. Immun., 27, 6.
6. Myhre, E.B. and Kronvall, G. (1980). Immunochemical Aspects of Fc-Mediated Binding of Human IgG Subclasses to Group A, C and G Streptococci. *Molecular Immunol.*, 17, 1563.
7. Myhre, E.B. and Kuusela, P. (1983). Binding of Human Fibronectin to Group A, C and G Streptococci. Inf. Immun., 40, 29.
8. Maggi T., Parigi R., Brignali S. and Meacci F. Valutazione di un test di agglutinazione al lattice per l'identificazione di S. aureus. 36° Congresso Naz. AMCLI. Rimini 2-5/10-2007.

Symbole użyte w IFU i na opakowaniu	
IVD Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro	Producent
X Nr katalogowy	Instrukcja użycia
Nr serii	Temperatura przechowywania
LOT Data ważności	Ryzyko biologiczne

wersja	data	zmiany
D	10-2022	Zmodyfikowano pod kątem zgodności z IVDR