

Zaburznik nr 1

# Wellcogen™ Bacterial Antigen Kit - Zestaw Wellcogen™ do wykrywania antygenów bakteryjnych

REF ZL26/R30859602 .....30 Testów

PL

## 1 PRZEZNACZENIE

Zestaw Wellcogen™ Bacterial Antigen Kit zawiera szereg szybkich testów lateksowych służących do jakościowego wykrywania antygenów *Streptococcus* z grupy B, *Haemophilus influenzae* typu b, *Streptococcus pneumoniae* (pneumococcus), *Neisseria meningitidis* (meningococcus) z grup A, B, C, Y lub W135 oraz *Escherichia coli* K1 występujących w płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF) w wyniku infekcji. Zestaw można również wykorzystywać do badania innych płynów ustrojowych lub supernatantów z posiewów krwi dla większości z tych antygenów oraz posiewów płytkowych dla *N. meningitidis* z grupy B lub *Escherichia coli* K1. (wskazania poparte danymi klinicznymi zestawiono w Tabeli 1).









## 2 OMÓWIENIE

Zapalenie opon mózgowych może być powodowane przez wiele różnych czynników, zarówno zakaźnych jak i niezakaźnych. W przypadku braku szybkiego i skutecznego leczenia bakteryjnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, choroba ta może być śmiertelna. Wczesna identyfikacja czynnika zakaźnego może mieć duże znaczenie dla zastosowania prawidłowej i adekwatnej chemioterapii u pacjenta. Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych może być powodowane przez wiele gatunków bakterii. *Streptococcus* z grupy B oraz *E. coli* K1 stanowią dwie najpowszechniejsze przyczyny posocznicy u noworodków, natomiast w starszych grupach wiekowych najpowszechniejszymi izolatami są *H. influenzae* typu b, *S. pneumoniae* i *N. meningitidis* z grup A, B, C, Y oraz W135. Organizmy te posiadają specyficzne polisacharydowe antygeny powierzchniowe, których pewna ilość dyfunduje do pożywki hodowlanej lub do płynów ustrojowych, takich jak płyn mózgowo-rdzeniowy lub surowica i jest wydalana z moczem. Antygeny te można wykrywać przy użyciu czułych metod immunologicznych, takich jak immunoelektroforeza przeciwbieżna oraz aglutynacja lateksowa<sup>2,5,6,10</sup>.

## 3 ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Odczynniki Wellcogen™ zawierają cząsteczki lateksu polistyrenowego, które zostały opłaszczone przeciwciałami przeciwko antygenom bakteryjnym. W obecności wystarczającej ilości antygeny homologicznego, cząsteczki lateksu ulegają aglutynacji. Odczynniki *Streptococcus* oraz *H. influenzae* są specyficzne odpowiednio dla grupy B i typu b, odczynnik *S. pneumoniae* jest uwrażliwiony przeciwciałami oczyszczonymi z omniwalentnej surowicy, a poliwalentny odczynnik *N. meningitidis* reaguje z grupami A, C, Y i antygenami W135. Antygen Meningococcus z grupy B jest trudniejszy do wykrycia<sup>6</sup>, jak również jest strukturalnie i immunologicznie spokrewniony z antygenem *E. coli* K1<sup>7</sup>; obydwie one reagują z odczynnikami *N. meningitidis* grupy B.

## 4 DEFINICJE SYMBOLI

-  Numer katalogowy
-  Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
-  Zawartość wystarcza do wykonania <n> testów
-  Zapoznać się z instrukcją użycia (IFU)
-  Ograniczenia dotyczące temperatury (temperatura przechowywania)
-  Kod partii (numer serii)
-  Data przydatności do użycia (termin ważności)
-  Producent

 Dodać wodę

## 5 ZAWARTOŚĆ, PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA I PRZECHOWYWANIE ZESTAWU

Zestaw Wellcogen™ Bacterial Antigen Kit zawiera odczynniki wystarczające do wykonania  $\nabla$  30 testów.

Patrz również **Środki ostrożności**, rozdział 6.

Wszystkie składniki należy przechowywać w temp. 2 do 8°C. Jest to warunek zachowania ich aktywności do końca terminu ważności zestawu.

Przed użyciem należy doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej (18 - 30 °C) i wymieszać je. Po użyciu, niewykorzystane odczynniki należy umieścić z powrotem w chłodziarce.



### Instrukcja użycia

**Jednorazowe kartoniki reakcyjne** (2 opakowania)

**Jednorazowe patyczki do mieszania** (5 wiązek)

**Jednorazowe zakraplacze** (1 pojemnik)

**Czarny smoczek gumowy** (1)

### TEST LATEX

### Lateksy testowe

Strep B (różowa zakrętka)

*H. influenzae* b (jasnoniebieska zakrętka)

*S. pneumoniae* (żółta zakrętka)

*N. meningitidis* ACY W135 (szara zakrętka)

*N. meningitidis* B/E. *coli* K1 (brązowa zakrętka)

Pięć buteleczek z zakraplaczem, po jednej specjalnie dla każdej z powyższych grup, zawierających 0.5% zawiesiny cząsteczek lateksu polistyrenowego w buforze zawierającym 0.05% preparatu Bronidox® i/ lub 0.1% azydku sodu jako konserwant. Cząsteczki lateksu opaszczone są odpowiednim przeciwciałem króliczym podanym na etykietce, za wyjątkiem odczynnika *N. meningitidis* grupy B/E. *coli* K1, który jest opaszczony mysim przeciwciałem monoklonalnym.

### CONTROL LATEX

### Lateksy kontrolne

5 buteleczek z zakraplaczem (ciemnoniebieska zakrętka), zawierających 0.5% zawiesiny cząsteczek lateksu polistyrenowego w buforze zawierającym 0.05% preparatu Bronidox® i/ lub 0.1% azydku sodu jako konserwant. Cząsteczki lateksu opaszczone są odpowiednim preparatem globuliny króliczej, a w przypadku lateksu *N. meningitidis* grupy B/E. *coli* K1, mysim przeciwciałem monoklonalnym wyhodowanym przeciwko *Bordetella bronchiseptica*.

Zawiesiny lateksowe są dostarczane gotowe do użycia i należy je przechowywać w temp. 2 do 8°C w pozycji pionowej, do terminu ważności zestawu. Po dłuższym okresie przechowywania w górnej części buteleczki może wystąpić nagromadzenie lub wysuszenie lateksu. W takiej sytuacji należy energicznie wstrząsać buteleczką przez kilka sekund, aż do całkowitego ponownego wytworzenia zawiesiny. NIE ZAMRAŻAĆ.

### CONTROL +

### Poliwalentna kontrola dodatnia

Dwie buteleczki (czerwona zakrętka) zawierające liofilizowane ekstrakty bakteryjne zawierające antygeny z reprezentatywnych szczepów każdego gatunku bakterii, dla którego dostarczono lateks. Zawiera 0.01% bronopolu przed przygotowaniem oraz 0.004% po przygotowaniu do użycia.

Rozpuścić używając 3.6 ml sterylnej wody destylowanej. Po dodaniu wody buteleczkę należy odstawić na kilka minut, a następnie wymieszać ruchem obrotowym. Rozpuszczony antygen można przechowywać w temp. 2 do 8°C przez maksymalnie 6 miesięcy.

CONTROL —

#### Kontrola ujemna

Jedna buteleczka z zakraplaczem (biała zakrętka) zawierająca bufor glicynowy w roztworze soli fizjologicznej, pH 8.2, z 0.05% preparatu Bronidox® jako konserwant.

## 6 ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

### IVD

Odczynniki przeznaczone są wyłącznie do użycia w diagnostyce *in vitro*.


Wyłącznie do użytku profesjonalnego.

**Ostrzeżenie: Wyrób zawiera suchy kauczuk naturalny.**

Informacje na temat składników potencjalnie niebezpiecznych podano w Karcie Charakterystyki Substancji (MSDS) i na etykietach produktu.

#### INFORMACJE DOTYCZĄCE ZDROWIA I BEZPIECZEŃSTWA

- 6.1 Lateksy testowe oraz preparaty kontrolne dla *Streptococcus* grupy B, *H. influenzae* typu b, *S. pneumoniae* oraz *N. meningitidis* ACY W135 zawierają 0.1% azydku sodu, który jest sklasyfikowany przez odpowiednie dyrektywy Europejskiej Wspólnoty Gospodarczej (EEC) jako szkodliwy (Xn). Poniżej podano odpowiednie określenia dotyczące ryzyka (zwroty R) i bezpieczeństwa (zwroty S).

Xn **R22** Działa szkodliwie po połknięciu  
 **S36** Nosić odpowiednią odzież ochronną

Azydki mogą wchodzić w reakcję z miedzią i ołowiem wykorzystywanymi w niektórych instalacjach kanalizacyjnych, tworząc sole wybuchowe. Ilości użyte w omawianym zestawie są niewielkie, jednakże w trakcie utylizacji materiałów zawierających azydek, należy je sputkiwać dużą ilością wody.

- 6.2 Zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej (GLP), zdecydowanie zaleca się traktowanie płynów ustrojowych jako potencjalnie zakaźne i obchodzenie się z nimi z zachowaniem wszelkich koniecznych środków ostrożności.
- 6.3 Podczas obchodzenia się z radiometryczną pożywką do posiewu krwi należy przestrzegać podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego. Są to między innymi następujące reguły:
- Materiał radioaktywny należy przechowywać w wyznaczonym miejscu w zatwierdzonym pojemniku.
  - Obchodzenie się z substancjami radioaktywnymi winno odbywać się w wyznaczonym miejscu.
  - Zabrania się pipetowania materiałów radioaktywnych ustami.
  - Zabrania się jedzenia, picia i palenia tytoniu w wyznaczonym miejscu.
  - Po użyciu materiałów radioaktywnych należy dokładnie umyć ręce.
  - W sprawach dotyczących usuwania materiałów należy skonsultować się z miejscowym inspektorem ds. bezpieczeństwa radiologicznego.
- 6.4 Przyrządy wielorazowego użytku należy po użyciu sterylizować z wykorzystaniem odpowiedniej metody. Preferowana jest sterylizacja w autoklawie przez 15 minut w temp. 121°C. Przyrządy jednorazowego użytku należy sterylizować w autoklawie lub spalać. Rozlane płyny, będące potencjalnymi materiałami zakaźnymi, należy utylizować niezwłocznie przy użyciu chłonnych ręczników papierowych, a zanieczyszczone miejsca należy przetrzeć tamponem zwilżonym standardowym antybakteryjnym preparatem dezynfekującym lub 70% alkoholem. NIE stosować podchlorynu sodu. Materiały używane przy czyszczeniu rozlanych płynów, włącznie z rękawicami, należy utylizować tak, jak biologiczne odpady niebezpieczne.
- 6.5 Nie pipetować ustami. Podczas obchodzenia się z próbkami i wykonywania testu należy nosić rękawice jednorazowe i środki ochrony oczu. Po zakończeniu prac należy dokładnie umyć ręce.

- 6.6 Używane zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej, właściwymi standardami higieny pracy oraz wytycznymi podanymi w niniejszej instrukcji użycia, dostarczone odczynniki nie są uważane za groźne dla zdrowia.

#### ANALITYCZNE ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- 6.7 Nie używać odczynników po upływie podanego terminu ważności.
- 6.8 Przed użyciem należy doprowadzić odczynniki lateksowe do temperatury pokojowej (18 - 30 °C). Odczynniki lateksowe, noszące oznaki zbrzylenia się cząsteczek przed użyciem, mogły być zamrożone i zabrania się ich użycia.
- 6.9 Podczas używania buteleczek z zakraplaczem ważne jest, aby trzymać je pionowo, a kropla musi tworzyć się w końcówce wylotowej zakraplacza. Zamoczenie wylotu zakraplacza spowoduje uformowanie niewłaściwej objętości wokół jego końca, a nie na samym końcu. Jeśli do tego dojdzie, przed wykonaniem dalszych czynności należy osuszyć wylot zakraplacza.
- 6.10 Odczynniki dostarczone w każdym zestawie są do siebie dopasowane pod względem działania i nie należy ich używać wraz z odczynnikami z zestawu o innym numerze serii.
- 6.11 Nie dotykać pól reakcyjnych na kartonikach.
- 6.12 W tym teście można wykorzystywać rotatory mechaniczne. Poniższe charakterystyki zostały uznane za zadowalające:
- Rotatory płaskie działające z prędkością 100 do 150 obr./min. o średnicy obwodowej 3.0 do 3.4 cm. Przed odczytem, kartonik należy zdjąć z rotatora i krótko kołysać.
  - Rotatory orbitalne (znane również jako rotatory przestrzenne), działające z prędkością 25 obr./min. z kątem obrotu w przybliżeniu 9 do 10.5 stopnia lub działające z prędkością 18 obr./min z kątem obrotu 16 do 17.5 stopnia.
- 6.13 Unikać mikrobiologicznych zanieczyszczeń odczynników, ponieważ może to doprowadzić do błędnych wyników.

## 7 POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

- 7.1 **Próbki płynów ustrojowych** (np. płyn mózgowo-rdzeniowy, surowica, mocz) należy badać tak szybko po pobraniu, jak to tylko możliwe. Jeżeli płynu nie można przebadać natychmiast, można go przechować do następnego dnia w temperaturze 2 do 8°C, bądź przez dłuższe okresy czasu w postaci zamrożonej w temp. -15 do -25°C. Jeżeli wymagane są analizy bakteriologiczne próbki, należy je zaplanować przed wykonaniem testu lateksowego, aby nie dopuścić do zanieczyszczenia próbki.
- 7.2 **Próbki posiewów krwi** można pobierać i badać po 18 do 24 godzinach inkubacji w temp. 37°C i/lub natychmiast po zaobserwowaniu wzrostu bakterii.
- 7.3 **Posiewy płytkowe** (tylko *N. meningitidis* B/E, *coli* K1). Wyizolowane kolonie rosnące na wzbogaconej pożywce agarowej (np. pożywka krwawa, agar czekoladowy) mogą być badane na drugi dzień po inkubacji w temp. 37°C. Należy wykonać barwienie barwnikiem Grama, aby ułatwić interpretację wyników testu lateksowego.

## 8 SPOSÓB WYKONANIA TESTU

#### WYMAGANE MATERIAŁY DOSTARCZONE

Patrz **Zawartość zestawu**, rozdział 5.

#### MATERIAŁY WYMAGANE, LECZ NIE DOSTARCZONE

Wrząca łaźnia wodna  
Wirówka laboratoryjna lub filtry membranowe (0.45 µm)  
Rotator (opcjonalnie – patrz: **Środki ostrożności**, rozdział 6)  
PRZYKOTOWANIE PRÓBEK KLINICZNYCH

- 8.1 **Próbki płynów ustrojowych** muszą zostać ogrzane przed badaniem zgodnie z procedurą Wellcogen™, aby zminimalizować reakcje nieswoiste<sup>4,6</sup>. Zaleca się stosowanie następujących procedur:
- W przypadku płynu mózgowo-rdzeniowego i moczu, próbkę należy ogrzewać przez 5 minut we wrzącej łaźni wodnej. Przed wykonaniem testu próbkę należy ochłodzić do temperatury pokojowej (18 do 30°C) i wyklarować poprzez wirowanie lub filtrację membranową (0.45 µm). W celu zapewnienia maksymalnej czułości, próbki moczu można zagęścić maksymalnie 25-krotnie w zagęszczaczu Minicon® B-15.

Przed wykonaniem testów należy dokonać klarowania zgodnie z powyższym opisem.

- b) W przypadku surowicy należy dodać 3 objętości 0.1 M kwasu etylenodiaminotetraoctowego w postaci soli dwusodowej (EDTA), pH 7.4, na 1 objętość surowicy, ogrzewać próbkę przez 5 minut we wrzącej łaźni wodnej, ochłodzić do temperatury pokojowej (18 do 30°C) i wyklarować zgodnie z wcześniejszym opisem. Dostępny jest odpowiedni roztwór EDTA (10 ml) (nr kat. ZL29/R30164501).

8.2 **Posiewy krwi.** Wirować 1 do 2ml próbki, aby doprowadzić do peletyzacji krwinek czerwonych - np. z przeciążeniem 1000 g przez 5 do 10 minut. Wykonać test lateksowy na supernatancie. Jeżeli wystąpi nieswoista reakcja dla supernatantu z posiewu krwi (patrz: **Interpretacja wyników, rozdział 10**), należy ogrzewać próbkę we wrzącej łaźni wodnej przez 5 minut, schłodzić do temperatury pokojowej (18 to 30°C), wyklarować przez wirowanie i powtórzyć badanie.

8.3 **Posiewy płytkowe** (tylko *N. meningitidis* B/E. coli K1). Test bezpośrednio z hodowli na płytce.

#### PROCEDURA

Przed wykonaniem badania zaleca się uważne przeczytanie części dotyczącej **Środków ostrożności, rozdział 6**.

#### Próbki płynów ustrojowych i supernatanty z posiewów krwi:

UWAGA: Jeżeli dostępna jest tylko ograniczona objętość badanej próbki, należy ją wykorzystać w pierwszej kolejności do wykonania badania z lateksami testowymi. W przypadku uzyskania wyniku dodatniego, próbkę należy przebadać przy użyciu odpowiedniego lateksu kontrolnego. Jeżeli objętość próbki jest wystarczająca, należy jednocześnie wykonać test i kontrolę lateksową.

|               |  |                 |
|---------------|--|-----------------|
| <b>Krok 1</b> | Przygotować próbkę zgodnie z poniższym opisem  |                 |
|               | <b>Przygotowanie próbek klinicznych.</b>   |                 |
| <b>Krok 2</b> | Wstrząsnąć odczynnik lateksowe.  |                 |
| <b>Krok 3</b> | Nanieść 1 kroplę każdego <b>lateksu testowego</b> lub <b>lateksu kontrolnego</b> na oddzielne pole na kartoniku reakcyjnym. Upewnić się, że buteleczki z zakraplaczem są trzymane pionowo, aby odmierzyć kroplę o dokładnej objętości.<br>(Patrz <b>Środki ostrożności, rozdział 6</b> ).  | <b>1 kropla</b> |
| <b>Krok 4</b> | Postępując się jednorazowym zakraplaczem, odmierzyć 1 kroplę (około 40 µl) <b>badanej próbki</b> obok każdej kropli lateksu.   | <b>1 kropla</b> |
| <b>Krok 5</b> | <b>Zmieszać</b> zawartość każdego pola przy użyciu patyczka do mieszania i rozprowadzić na całej powierzchni pola.<br>Do każdego pola należy używać oddzielnego patyczka i odłożyć go celem bezpiecznego usunięcia po użyciu.  |                 |
| <b>Krok 6</b> | <b>Kołysać</b> kartonikiem powoli i <b>obserwować</b> , czy zachodzi aglutynacja przez 3 minuty, trzymając kartonik w normalnej odległości odczytu (25 do 35 cm) od oczu.<br>Nie używać szkła powiększającego. Obracanie mechaniczne (3 minuty) może być stosowane (patrz <b>Środki ostrożności, rozdział 6</b> ). Wzory, które uzyskuje się są wyraźne i można je rozpoznać we wszystkich normalnych warunkach oświetleniowych. | <b>3 minuty</b> |
| <b>Krok 7</b> | Odłożyć wykorzystany kartonik reakcyjny do bezpiecznego usunięcia.   |                 |

#### Posiewy na płytkach:

(Tylko Wellcogen™ *N. meningitidis* B/E. coli K1):

|               |   |                  |
|---------------|---|------------------|
| <b>Krok 1</b> | Wstrząsnąć odczynnik lateksowe.   |                  |
| <b>Krok 2</b> | Dla każdej hodowli, dla której ma zostać wykonany test, odmierzyć 1 kroplę <b>lateksu testowego</b> w jednym polu na kartoniku reakcyjnym i 1 kroplę <b>lateksu kontrolnego</b> w oddzielnym polu.<br>UWAGA: niezbędne jest użycie <b>lateksu kontrolnego</b> dla podejrzanych hodowli <i>E. coli</i> .                         | <b>1 kropla</b>  |
| <b>Krok 3</b> | Wziąć patyczek do mieszania i pobrać pewną ilość hodowli z próbki dotykając jej płaskim końcem patyczka. Orientacyjnie powinna zostać pobrana ilość hodowli równoważna w przybliżeniu 1 dużej wyrostłej kolonii.  |                  |
| <b>Krok 4</b> | <b>Zemulgować</b> próbkę hodowli w kropli <b>lateksu testowego</b> pocierając płaskim końcem patyczka. Pocierać dokładnie, ale nie zbyt mocno, aby nie uszkodzić powierzchni kartonika. Rozprowadzić lateks, aby pokryć tak dużą powierzchnię pola, jak to możliwe. Odłożyć patyczek do mieszania celem bezpiecznego usunięcia. |                  |
| <b>Krok 5</b> | Używając oddzielnego patyczka, <b>zemulgować</b> podobną próbkę hodowli w <b>lateksie kontrolnym</b> .  |                  |
| <b>Krok 6</b> | <b>Kołysać</b> powoli kartonikiem i <b>obserwować</b> , czy zachodzi aglutynacja przez 20 sekund, trzymając kartonik w normalnej odległości odczytu (25 do 35 cm) od oczu. Nie używać szkła powiększającego. Uzyskiwane wzory są wyraźne i można je z łatwością rozpoznać we wszystkich normalnych warunkach oświetleniowych.   | <b>20 sekund</b> |
| <b>Krok 7</b> | Odłożyć wykorzystany kartonik reakcyjny do bezpiecznego usunięcia.  |                  |

#### 9 KONTROLA JAKOŚCI

Poniższe procedury należy wykonać na początku stosowania każdej otrzymanej przesyłki zestawów testowych oraz dla każdej serii próbek poddawanych badaniom. W praktyce serię można zdefiniować jako 24-godzinny okres wykonywania testów. Wszelkie odchylenie od wartości oczekiwanych oznacza możliwy problem z odczynnikami, którego rozwiązanie jest konieczne przed dalszym postępowaniem z próbkami klinicznymi.

#### KONTROLA WZROKOWA

Zawiesiny lateksowe należy zawsze sprawdzać pod kątem zbijania się (agregacji) cząsteczek podczas nanoszenia na kartonik testowy, a jeśli widoczne są oznaki tworzenia się grudek przed dodaniem badanej próbki, zabrania się używania zawiesiny. Po dłuższym okresie przechowywania, w górnej części buteleczki może wystąpić nagromadzenie lub wysuszenie substancji. W przypadku zaobserwowania takiej sytuacji, buteleczką należy energicznie wstrząsnąć przez kilka sekund, aż co całkowitego ponownego wytworzenia zawiesiny.

#### PROCEDURA KONTROLI DODATNIEJ

Reaktywność testu można potwierdzić, dodając poliwalentną kontrolę dodatnią do pola reakcyjnego, w którym badana próbka nie doprowadziła do aglutynacji lateksu testowego po 3 minutach rotacji.

|               |   |                 |
|---------------|---|-----------------|
| <b>Krok 1</b> | Postępując się jednorazowym zakraplaczem, dodać 1 kroplę dodatniej kontroli do pola zawierającego lateks testowy i próbkę.  | <b>1 kropla</b> |
| <b>Krok 2</b> | Wymieszać przy użyciu patyczka do mieszania i odłożyć w celu bezpiecznego usunięcia.  |                 |
| <b>Krok 3</b> | Kołysać kartonikiem ręcznie lub przy użyciu rotatora przez kolejne 3 minuty. Po upływie tego czasu, wyraźna aglutynacja powinna być widoczna w lateksie testowym. | <b>3 minuty</b> |
| <b>Krok 4</b> | Odłożyć wykorzystany kartonik reakcyjny do bezpiecznego usunięcia.  |                 |

#### PROCEDURA KONTROLI UJEMNEJ

Jeżeli co najmniej jedna badana próbka w danej serii daje wynik ujemny dla lateksów testowych i kontrolnych, (lub tylko dla lateksu testowego, gdy nie używano lateksu kontrolnego), stanowi to ważną kontrolę ujemną dla odczynników i nie jest konieczne wykonywanie dalszych badań.

Jeżeli badana próbka prowadzi do aglutynacji lateksu testowego, lecz nie powoduje aglutynacji lateksu kontrolnego, to należy przeprowadzić kontrolę lateksu testowego odpowiednio przy użyciu kontroli ujemnej albo niezaszczepionej pożywki do posiewu krwi (patrz poniżej).

## INTERPRETACJA WYNIKÓW

|               |  |                 |
|---------------|--|-----------------|
| <b>Krok 1</b> | Nanieść 1 kroplę lateksu testowego na jedno pole na kartoniku reakcyjnym.  | <b>1 kropla</b> |
| <b>Krok 2</b> | Odmierzyć 1 kroplę kontroli ujemnej lub niezaszczepionej pożywki do posiewu krwi obok testowego lateksu.   | <b>1 kroplę</b> |
| <b>Krok 3</b> | Wymieszać przy użyciu patyczka do mieszania i odłożyć do bezpiecznego usunięcia.   |                 |
| <b>Krok 4</b> | Kotysać kartonikiem ręcznie lub przy użyciu rotatora przez kolejne 3 minuty. Po upływie tego czasu, nie powinna wystąpić żadna znacząca aglutynacja w lateksie testowym. | <b>3 minuty</b> |
| <b>Krok 5</b> | Odłożyć wykorzystany kartonik reakcyjny do bezpiecznego usunięcia.   |                 |

W przypadku badań próbek płynów ustrojowych, należy użyć kontroli ujemnej dostarczonej wraz z zestawem.

W przypadku badań hodowli z krwi, w charakterze kontroli ujemnej należy użyć próbki niezaszczepionej pożywki do posiewu krwi, pochodzącej z tego samego źródła, co próbka. Uwaga: badanie niezaszczepionej pożywki jest ważne, ponieważ w przypadku niektórych składów pożywek do posiewów krwi mogą występować reakcje fałszywie dodatnie.

### Uwagi:

- Jeśli zachodzi taka potrzeba, w charakterze kontroli dodatnich i kontroli ujemnych można wykorzystać wcześniej zbadane próbki o odczynie odpowiednio dodatnim i ujemnym, podzielone na równe objętości i przechowywane w temp.  $-15$  do  $-25^{\circ}\text{C}$  lub niższej. Kontrola dodatnia może być również zastosowana zamiast próbki badanej.
- W przypadku badań identyfikujących kolonie (jedynie Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1), działanie lateksów testowych i kontrolnych można potwierdzić stosując świeże, założone poprzedniego dnia hodowle szczepów odniesienia, zgodnie z metodą opisaną w części **Sposób wykonania testu**. Odpowiednie szczepy odniesienia to:  
ATCC 13090 – *N. meningitidis* z grupy B (reaktywność dodatnia)  
ATCC 23503 – *E. coli* typu K1 (reaktywność dodatnia)  
ATCC 13077 – *N. meningitidis* z grupy A (reaktywność ujemna)  
ATCC 13090 oraz ATCC 23503 powinny powodować aglutynację lateksu testowego i brak znaczącej aglutynacji lateksu kontrolnego; ATCC 13077 nie powinien powodować znaczącej aglutynacji lateksu testowego ani kontrolnego.

## 10 WYNIKI

### ODCZYTYWANIE WYNIKÓW

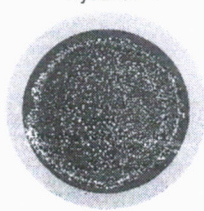
Na reakcję **pozytywną** wskazuje pojawienie się aglutynacji w ciągu 3 minut (20 sekund dla testów kolonii) od zmieszania lateksu z badaną próbką, wykazującej wyraźnie widoczne zlepianie się cząstek lateksu (Rysunek 1).

Prędkość pojawiania się i jakość aglutynacji uzależnione są od siły antygeny - występują rozmaite grudki: od dużych pojawiających się po kilku sekundach od zmieszania, po małe tworzące się raczej ilości grudek mogą być wykrywalne we wzorach ujemnych, w zależności od ostrości wzroku operatora. W przypadku identyfikacji hodowli, niektóre szczepy mogą powodować aglutynację lateksu w postaci „włókienek” z mlecznym tłem, co należy interpretować jako reakcję ujemną.

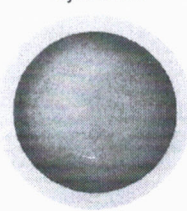
W przypadku reakcji **ujemnej** nie dochodzi do aglutynacji lateksu, a mleczny wygląd pozostaje zasadniczo niezmienny przez cały czas trwania badania (Rysunek 2). Należy jednak pamiętać, że znikome ilości grudek mogą być wykrywalne we wzorach ujemnych, w zależności od ostrości wzroku operatora. W przypadku identyfikacji hodowli, niektóre szczepy mogą powodować aglutynację lateksu w postaci „włókienek” z mlecznym tłem, co należy interpretować jako reakcję ujemną.

UWAGA: Cząsteczki lateksowe wykorzystywane w testowych i kontrolnych zawiesinach lateksowych Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1 nie są takie same jak w innych odczynnikach i charakteryzują się drobniejszą aglutynacją.

Rysunek 1



Rysunek 2



### Wynik dodatni

Wyraźna aglutynacja pojedynczego lateksu testowego, której towarzyszą reakcje ujemne dla wszystkich innych odczynników lateksu testowego i lateksu kontrolnego oznacza występowanie i tożsamość antygeny bakteryjnej w badanej próbce. Zasadą ogólną jest to, że dodatni wynik dla Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1 w próbce pochodzącej od noworodka sugeruje infekcję *E. coli* K1; u starszych pacjentów bardziej prawdopodobna jest infekcja meningokokami z grupy B.

### Wynik ujemny

Ujemne reakcje dla wszystkich odczynników lateksu testowego oznaczają brak możliwości do wykrycia poziomu antygenów bakteryjnych w badanym płynie – nie wyklucza to możliwości infekcji spowodowanej przez te organizmy i jeżeli objawy utrzymują się, pożądanym może okazać się wykonanie badania na kolejnych lub alternatywnych próbkach, bądź po zagęszczeniu próbki moczu.

W przypadku hodowli, brak aglutynacji w odczynnikach Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1 oznacza niskie prawdopodobieństwo, że jest to *N. meningitidis* z grupy B lub *E. coli* K1.

### Wynik niemożliwy do zinterpretowania

Aglutynacja więcej niż jednego odczynnika lateksu testowego lub odpowiednich lateksów testowych i kontrolnych oznacza reakcję nieswoistą. W większości przypadków reakcje nieswoiste w odniesieniu do płynów ustrojowych można wyeliminować poprzez ogrzanie i klarowanie próbek<sup>4</sup> (patrz: **Przygotowanie próbek klinicznych**, rozdział 8). Jeżeli wystąpi nieswoista reakcja dla supernatantu z hodowli krwi, to należy ogrzewać próbkę we wrzącej łaźni wodnej przez 5 minut, schłodzić do temperatury pokojowej (18 do 30°C), wyklarować przez wirowanie i powtórzyć badanie.

UWAGA: Badania wykonywane bezpośrednio na próbkach klinicznych są przeznaczone do celów przesiewowych i powinny mieć charakter pomocniczy, a nie zastępczy wobec procedur hodowlanych. Wyniki muszą być stosowane w powiązaniu z innymi danymi, takimi jak objawy, wyniki innych badań, obserwacje kliniczne, itp.

## 11 OGRANICZENIA DZIAŁANIA

- W przypadku płynów ustrojowych pochodzących od noworodka** (tylko paciorkowce grupy B) – mogą wystąpić wyniki fałszywie ujemne w przypadku próbek zawierających poziomy antygenów poniżej granic wykrywania niniejszego zestawu testowego. Po uzyskaniu wyników ujemnych należy wykonać selektywną hodowlę bulionową. Wynik dodatni wskazuje na obecność antygeny paciorkowców grupy B; wynik niekoniernie oznacza obecność żywych organizmów.
- W przypadku płynów ustrojowych pochodzących od noworodka** (tylko paciorkowce grupy B) – użycie niniejszego zestawu testowego nie powinno zastępować hodowli mikrobiologicznej. Działanie niniejszego zestawu testowego w zakresie przewidywania chorób powodowanych przez paciorkowce grupy B na podstawie badań moczu noworodka nie zostało sprawdzone.
- Infekcje paciorkowcem grupy B występują głównie u noworodków. Dodatnie wyniki uzyskane dla próbek płynów ustrojowych pobranych od pacjentów w wieku powyżej sześciu miesięcy należy interpretować ostrożnie. Dodatnie wyniki uzyskane dla supernatantów z hodowli krwi pacjentów w dowolnym wieku mogą być znaczące.
- Dodatni wynik testu uzależniony jest od obecności wykrywalnego poziomu antygeny w płynie ustrojowym lub pożywce do posiewu krwi.
- W zakresie wykrywania antygeny w moczu lub surowicy przy użyciu Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1 (Tabela 6) dostępne są ograniczone dane kliniczne. Nie są dostępne żadne dane kliniczne dotyczące wykrywania antygeny w moczu przy użyciu Wellcogen™ N. meningitidis ACY W135 (Tabela 5). Jednakże obecność antygeny została wykryta w próbkach moczu ACY W135<sup>5</sup>.
- Znanych jest kilka przykładów bakterii niespokrewnionych, które posiadają antygeny wspólne i, podobnie jak w każdym systemie testu immunologicznego, nie można wykluczyć ewentualności wystąpienia reakcji krzyżowych w teście lateksowym<sup>1,3,8,9</sup>.

## 12 WYNIKI OCZEKIWANE

Próbki zawierające wykrywalne poziomy antygen paciorkowca z grupy B, antygeny *H. influenzae* typu b, antygeny otoczkowego *S. pneumoniae*, antygeny *N. meningitidis* A, C, Y, W135 lub antygeny *N. meningitidis* B / *E. coli* K1 wywołają reakcję aglutynacji z odpowiednim lateksem testowym.

## 13 CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

### 13.1 Płyny ustrojowe i posiewy krwi

Badania kliniczne przeprowadzono w 15 centrach z użyciem próbek płynów ustrojowych (świeżych i przechowywanych w postaci zamrożonej) oraz supernatantów z hodowli krwi. W badaniach nad posiewami krwi wykorzystano zarówno tradycyjne, jak i radiometryczne techniki hodowlane. Przechowywane próbki płynów ustrojowych nie były poddawane obróbce termicznej zgodnie z opisem w części **Przygotowanie próbek klinicznych**, rozdział 8. Obszerne badania laboratoryjne wykazały brak znacznej utraty antygeny po ogrzaniu z wykorzystaniem tej procedury.

#### Czułość

Czułość każdego lateksu w zestawie została ustalona na podstawie badań na próbkach dających dodatni wynik hodowli dla organizmu homologicznego lub dla których istniały inne dowody infekcji (rozpoznanie kliniczne plus dodatni wynik innego testu antygenowego).

Tabele od 2 do 6 podają liczby każdego typu próbek przebadanych indywidualnymi preparatami lateksowymi wraz z liczbą uzyskanych wyników dodatnich. Czułość każdego lateksu w wykrywaniu antygenów bakteryjnych w płynie mózgowo-rdzeniowym wynosiła 67% (12/18) dla Wellcogen™ Strep B, 97% (87/90) dla Wellcogen™ *H. influenzae* b, 88% (45/51) for Wellcogen™ *S. pneumoniae*, 71% (29/41) dla Wellcogen™ *N. meningitidis* ACY W135 oraz 65% (11/17) dla Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1.

#### Specyficzność

Specyficzność każdego z odczynników Wellcogen™ oszacowano wykorzystując próbki płynu ustrojowego (świeże i zamrożone) oraz próbki z hodowli krwi pochodzące od pacjentów z bakteryjnym lub aseptycznym zapaleniem opon mózgowych i innymi nieskojarzonymi stanami.

Z zainfekowanej próbki wyizolowano następujące organizmy: *H. influenzae* b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* włącznie z grupami A, B, C, Y, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus epidermidis*, alfa-hemolizujący paciorkowiec, beta-hemolizujący paciorkowiec z grupy A, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas*, *Streptococcus sanguis*, *Toxoplasma gondii* oraz bakterie z grupy coli.

Specyficzność wszystkich pięciu lateksów Wellcogen™ w badaniach na płynie mózgowo-rdzeniowym była wyższa od 98%. Szczegółowe dane dotyczące liczby przebadanych próbek oraz specyficzności każdego testu Wellcogen™ dla każdego typu próbki podano w tabelach od 2 do 6.

### 13.2 Posiewy płytkowe (*N. meningitidis* B/*E. coli* K1).

Hodowle *N. meningitidis* oraz *E. coli* prowadzone na wzbogaconej pożywce agarowej zostały przebadane w laboratoriach szpitalnych oraz w wewnętrznych laboratoriach firmy. Wszystkie hodowle *N. meningitidis* z grupy B oraz *E. coli* K1 zostały prawidłowo zidentyfikowane. Nie wystąpiły żadne reakcje krzyżowe z innymi grupami *N. meningitidis* lub innymi antygenami *E. coli* K (Tabela 7). Duża część hodowli *E. coli* z innymi antygenami K, które poddano badaniom, dała reakcje nieswoiste (Tabela 7).

Tabela 1

### Próbki, które zbadano przy użyciu indywidualnych odczynników lateksowych Wellcogen™

| Próbka                 | Wellcogen™ |                        |                      |   |
|------------------------|------------|------------------------|----------------------|---|
|                        | Strep. B   | <i>H. influenzae</i> b | <i>S. pneumoniae</i> | <i>N. meningitidis</i> ACY W135 / <i>N. meningitidis</i> B/ <i>E. coli</i> K1 |
| Płyn mózgowo-rdzeniowy | +          | +                      | +                    | +   |
| Surowica               | +          | +                      | +                    | +   |
| Mocz                   | +          | +                      | +                    | +   |
| Posiew krwi            | +          | +                      | +                    | +   |
| Kolonie bakteryjne     | -          | -                      | -                    | +   |

#### Objaśnienia

- + Dostępne dane wspierające niniejsze zastosowania.
- +\* Dostępne ograniczone dane.
- Brak dostępnych danych.

Tabela 2

### Wyniki badań klinicznych nad Wellcogen™ Strep B

| Próbka                 | Czułość <sup>a</sup> |                  | Specyficzność <sup>b</sup> |                  |
|------------------------|----------------------|------------------|----------------------------|------------------|
|                        | Liczba przebadanych  | Liczba dodatnich | Liczba przebadanych        | Liczba dodatnich |
| Płyn mózgowo-rdzeniowy | 18                   | 12               | 58                         | 1 <sup>c</sup>   |
| Surowica               | 19                   | 13               | 7                          | 0                |
| Mocz                   | 20                   | 17               | 22                         | 1 <sup>d</sup>   |
| Posiew krwi            | 9                    | 9                | 369                        | 4 <sup>e</sup>   |

<sup>a</sup> beta-hemolizujący paciorkowiec z grupy B wyizolowany/wykryty (diagnoza kliniczna / inny test antygenowy).

<sup>b</sup> bakterie inne niż paciorkowce. B/brak wzrostu.

<sup>c</sup> *E. coli* wyizolowane.

<sup>d</sup> *P. mirabilis* wyizolowane.

<sup>e</sup> *Staph. epidermidis*; beta-hemolizujący strep. z grupy A; *E. coli* + *Enterococcus*; *Staph. epidermidis* + *Enterococcus* wyizolowane.

Tabela 3

### Wyniki badań klinicznych nad Wellcogen™ *H. influenzae* b

| Próbka                 | Czułość             |                  | Specyficzność       |                  |
|------------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|
|                        | Liczba przebadanych | Liczba dodatnich | Liczba przebadanych | Liczba dodatnich |
| Płyn mózgowo-rdzeniowy | 90                  | 87               | 375 <sup>a</sup>    | 2 <sup>b</sup>   |
| Surowica               | 21                  | 20               | 21                  | 0                |
| Mocz                   | 10                  | 10               | 236                 | 0                |
| Posiew krwi            | 54                  | 54               | 1566 <sup>c</sup>   | 5 <sup>d</sup>   |

<sup>a</sup> Jedna dodatkowa próbka płynu mózgowo-rdzeniowego dała reakcję nieswoistą.

<sup>b</sup> Jedna próbka aseptyczna; *E. coli* wyizolowane z innej próbki.

<sup>c</sup> Dwa dodatkowe supernatanty z hodowli krwi dały reakcje nieswoiste.

<sup>d</sup> Jedna próbka aseptyczna. Wzrost w pozostałych próbkach: *Staph. aureus*; *E. coli* + *Staph. epidermidis*; *K. oxytoca*; alfa-hemolizujący paciorkowiec.

Tabela 4

### Wyniki badań klinicznych nad Wellcogen™ *S. pneumoniae*

| Próbka                 | Czułość             |                  | Specyficzność       |                  |
|------------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|
|                        | Liczba przebadanych | Liczba dodatnich | Liczba przebadanych | Liczba dodatnich |
| Płyn mózgowo-rdzeniowy | 51                  | 45               | 483 <sup>a</sup>    | 2 <sup>b</sup>   |
| Surowica               | 6                   | 6                | 13                  | 0                |
| Mocz                   | 105                 | 46               | 320 <sup>c</sup>    | 0                |
| Posiew krwi            | 113                 | 109              | 1512                | 7 <sup>d</sup>   |

<sup>a</sup> Jedna dodatkowa próbka płynu mózgowo-rdzeniowego dała reakcję nieswoistą.

<sup>b</sup> *Enterobacter aerogenes*; bakterie z grupy coli.

<sup>c</sup> Trzy dodatkowe próbki moczu dały reakcje nieswoiste.

<sup>d</sup> *Pseudomonas*; *Strep. sanguis*; *Staph. epidermidis* + *Enterococcus*; *Strep. viridans* wyizolowane z 4 próbek.

**Tabela 5**  
**Wyniki badań klinicznych nad**  
**Wellcogen™ N. meningitidis ACY W135**

| Próbka                     | Czutość                |                     | Specyficzność          |                     |
|----------------------------|------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|
|                            | Liczba<br>przebadanych | Liczba<br>dodatnich | Liczba<br>przebadanych | Liczba<br>dodatnich |
| Płyn mózgowo-<br>rdzeniowy | 41 <sup>a</sup>        | 29                  | 423                    | 2 <sup>b</sup>      |
| Surowica                   | 5                      | 3                   | 36                     | 0                   |
| Mocz                       | 0                      | —                   | 229 <sup>c</sup>       | 0                   |
| Posiew krwi                | 7                      | 7                   | 1615                   | 2 <sup>d</sup>      |

<sup>a</sup> Obejmuje 8 z grupy A, 25 z grupy C i 1 z grupy Y (pozostałe nie pogrupowane).

<sup>b</sup> *K. aerogenes*; *E. coli*.

<sup>c</sup> Pięć dodatkowych próbek moczu dało reakcje nieswoiste.

<sup>d</sup> *Strep. sanguis*; *Staph. epidermidis* + *Enterococcus*.

**Tabela 6**  
**Wyniki badań klinicznych nad**  
**Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1**

| Próbka                         | Czutość                |                     | Specyficzność          |                     |
|--------------------------------|------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|
|                                | Liczba<br>przebadanych | Liczba<br>dodatnich | Liczba<br>przebadanych | Liczba<br>dodatnich |
| Płyn mózgowo-<br>rdzeniowy     |                        |                     |                        |                     |
| <i>N. meningitidis</i> B       | 11                     | 7                   | 128                    | 0                   |
| <i>E. coli</i> K1 <sup>a</sup> | 6                      | 4                   | 128                    | 0                   |
| Surowica:                      |                        |                     |                        |                     |
| <i>N. meningitidis</i> B       | 2                      | 1                   | 3                      | 0                   |
| Mocz:                          |                        |                     |                        |                     |
| <i>N. meningitidis</i> B       | 2                      | 1                   | 7                      | 0                   |
| Posiew krwi:                   |                        |                     |                        |                     |
| <i>N. meningitidis</i> B       | 7                      | 5                   | 461                    | 3 <sup>b</sup>      |

<sup>a</sup> Próbki przechowywane w postaci zamrożonej. Wszystkie inne próbki badane jako świeże.

<sup>b</sup> Hodowle tlenowe i beztlenowe (beta-hemolizujący strep A) dla tego samego pacjenta; gronkowiec koagulazo-ujemny.

**Tabela 7**  
**Identyfikacja hodowli przy użyciu**  
**Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1**

| Kultura <sup>a</sup>              | +  | -               |
|-----------------------------------|----|-----------------|
| <i>N. meningitidis</i> grupa A    | 0  | 16              |
| <i>N. meningitidis</i> grupa B    | 10 | 0               |
| <i>N. meningitidis</i> grupa C    | 0  | 18              |
| <i>N. meningitidis</i> grupa 29E  | 0  | 8               |
| <i>N. meningitidis</i> grupa W135 | 0  | 7               |
| <i>N. meningitidis</i> grupa X    | 0  | 4               |
| <i>N. meningitidis</i> grupa Y    | 0  | 5               |
| <i>N. meningitidis</i> grupa Z    | 0  | 3               |
| <i>E. coli</i> K1                 | 7  | 0               |
| <i>E. coli</i> – inne antygeny    | 0  | 13 <sup>b</sup> |

<sup>a</sup> Hodowle identyfikowane poprzez aglutynację szkiełkową.

<sup>b</sup> 10 dodatkowych hodowli dało reakcje nieswoiste.

## 14 PIŚMIENICTWO

- 1 Argaman, M., Llu, T.Y., *et al* (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria cross-reactive with the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *J. Immunol.*, 112, 649.
- 2 Baker, C.J. and Rench, M.A. (1983). Commercial latex agglutination for detection of group B streptococcal antigen in body fluids. *J. Pediatr.*, 102, 393.
- 3 Bovre, K., Bryn, K., *et al* (1983). Surface polysaccharide of *Moraxella non-liquefaciens* identical to *Neisseria meningitidis* group B capsular polysaccharide. Badania chemiczne i immunologiczne *NIPH Annals*, 6, 65.

- 4 Doakeland, S.O. and Børdal, B.P. (1980). Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. *J. Clin. Microbiol.*, 11, 380.
- 5 Feigin, R.D., Wong, M., *et al* (1976). Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. *J. Pediatr.*, 89, 773.
- 6 Kaldor, J., Asznovicz, R., *et al* (1977). Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. *Amer. J. Clin. Path.*, 68, 284.
- 7 Kasper, D.L., Winkelhake, J.L., *et al* (1973). Immunochemical similarity between polysaccharide antigens of *Escherichia coli* O7:K1(L):NM and group B *Neisseria meningitidis*. *J. Immunol.*, 110, 262.
- 8 Lee, C.J. and Koizumi, K. (1981). Immunochemical relations between pneumococcal group 19 and *Klebsiella capsular polysaccharides*. *J. Immunol.*, 127, 1619.
- 9 Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., *et al* (1972). Enteric bacteria cross-reactive with *Neisseria meningitidis* groups A and C and *Diplococcus pneumoniae* types I and III. *Infect. Immun.*, 6, 651.
- 10 Whittle, H.C., Tugwell, P., *et al* (1974). Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. *Lancet*, II, 619.



Producent:

Wyprodukowano dla:

Aby uzyskać pomoc techniczną, prosimy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem.

IFU X7713-PL, Poprawiono 3 maja 2011 Wydrukowano w Wielkiej Brytanii