EN

www.thermofisher.com

Europe +800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Wellcogen Bacterial Antigen Kit

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. INTENDED USE

The Wellcogen™ Bacterial Antigen Kit provides a series of rapid latex tests for use in the qualitative detection of antigen from *Streptococcus* group B, *Haemophilus influenzae* type b, *Streptococcus pneumoniae* (pneumococcus), *Neisseria meningitidis* (meningococcus) groups A, B, C, Y or W135 and *Escherichia coli* K1 present in in cerebrospinal fluid (CSF) and blood culture as a consequence of infection. The kit can also be used to test urine specimens for Group B *Streptococcus* antigen and plate cultures for *N. meningitidis* group B or *Escherichia coli* K1. (See Table 1 for indications supported by clinical data).

NOTE: Tests performed directly on clinical specimens are intended for screening purposes and should augment, not replace, culture procedures. Results must be used in conjunction with other data; e.g. symptoms, results of other tests, clinical impressions etc.

IVD The reagents are for *in vitro* diagnostic use only. For professional use only.

2. SUMMARY

Meningitis has a wide variety of potential causes, either infectious or noninfectious. If bacterial meningitis is not treated promptly and effectively, the disease is likely to be fatal. Early identification of the infecting agent can be of considerable value in providing the patient with appropriate and adequate chemotherapy. Many bacterial species have been implicated in meningitis. *Streptococcus* group B and *E. coli* K1 are two of the most common causes of neonatal sepsis whilst in older age groups the commonest isolates are *H. influenzae* type b, *S. pneumoniae* and *N. meningitidis* groups A, B, C, Y and W135. These organisms carry specific polysaccharide surface antigens, a quantity of which diffuses into culture media or body fluids such as CSF or serum, and is excreted in the urine. The antigens can be detected by sensitive immunological methods such as counterimmuno-electrophoresis and latex agglutination[2,5,6,10].

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The Wellcogen reagents consist of polystyrene latex particles which have been coated with antibodies to the bacterial antigens. These latex particles agglutinate in the presence of sufficient homologous antigen. The Streptococcus and H. influenzae reagents are group B and type b specific respectively, the S. pneumoniae reagent is sensitised with antibodies purified from an omnivalent serum and the N. meningitidis polyvalent reagent reacts with groups A, C, Y and W135 antigens. *N. meningitidis* group B antigen is more difficult to detect[6] as well as being structurally and immunologically related to *E. coli* K1 antigen[7]; both of these react with the N. meningitidis group B reagent.

4. SYMBOL DEFINITIONS

REF	Catalogue Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
i	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitations (Storage temp.)
Σ N	Contains sufficient for <N> tests
LOT	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
EC REP	Authorized representative in the European Community
UK CA	UK Conformity Assessed
CE	European Conformity Assessment
	Manufacturer

5. KIT CONTENTS, PREPARATION FOR USE AND STORAGE

The Wellcogen Bacterial Antigen Kit includes sufficient reagents to perform Σ 30 tests.

See also **Precautions**, section **6**.

All components should be stored at 2 to 8°C under which condition they will retain their activity until the expiry date of the kit.

Before use, bring all reagents to room temperature (18 - 30°C) and mix. Return the unused reagents to the refrigerator after use.

i **Instructions for Use**
Disposable Reaction Cards (2 packs)
Disposable Mixing Sticks (5 bundles)
Disposable Droppers (1 container)
Black rubber teat (1)

TEST LATEX **Test Latex**

Strep B (pink cap)
H. influenzae b (pale blue cap)
S. pneumoniae (yellow cap)
N. meningitidis ACY W135 (grey cap)
N. meningitidis B/E. coli K1 (brown cap)

Five dropper bottles, one specific for each of the groups above, containing 0.5% suspensions of polystyrene latex particles in buffer containing 0.05% Bronidox® and/or 0.1% sodium azide as preservative. The latex particles are coated with the appropriate rabbit antibody, as labelled, except for the N. meningitidis group B/E. coli K1 reagent, which is coated with murine monoclonal antibody.

CONTROL LATEX **Control Latexes**

5 dropper bottles (dark blue cap) containing 0.5% suspensions of polystyrene latex particles in buffer containing 0.05% Bronidox® and/or 0.1% sodium azide as preservative. The latex particles are coated with an appropriate preparation of rabbit globulin or in the case of the N. meningitidis group B/E. coli K1 latex, a murine monoclonal antibody raised against *Bordetella bronchiseptica*.

The latex suspensions are provided ready for use and should be stored at 2 to 8°C in an upright position, until the expiry date of the kit. After prolonged storage some aggregation or drying of the latex may have occurred around the top of the bottle. Under these circumstances the bottle of latex should be shaken vigorously for a few seconds until resuspension is complete. DO NOT FREEZE.

CONTROL + **Polyvalent Positive Control**

Two bottles (blue cap) containing freeze-dried bacterial extracts containing antigens from representative strains of each bacterial species for which latex is provided. Contains 0.01% bronopol before reconstitution and 0.004% when reconstituted.

Reconstitute using 3.6 ml of sterile distilled water. After the addition of water allow the bottle to stand for a few minutes and then swirl to mix. Store reconstituted antigen at 2 to 8°C for up to 6 months.

CONTROL − **Negative Control**

One dropper bottle (white cap) containing Glycine saline buffer, pH 8.2, with 0.05% Bronidox® as preservative.

6. PRECAUTIONS

Please refer to the Safety Data Sheet (SDS) and product labelling for information on potentially hazardous components.

HEALTH AND SAFETY INFORMATION

6.1 The Test and Control Latexes for *Streptococcus* group B, *H. influenzae* type b, *S. pneumoniae* and *N. meningitidis* ACY W135 contain 0.1% sodium azide. Azides can react with copper and lead used in some plumbing systems to form explosive salts. The quantities used in this kit are small; nevertheless when disposing of azide-containing materials they should be flushed away with large volumes of water.

6.2 In accordance with the principles of Good Laboratory Practice it is strongly recommended that body fluids should be treated as potentially infectious and handled with all necessary precautions.

6.3 When handling radiometric blood culture medium, the basic rules of radiation safety should be followed. These include:

a) Radioactive material should be stored in a designated area in an approved container.
b) Handling of radioactivity should take place in a designated area.
c) No mouth pipetting of radioactive material should be carried out.
d) No eating, drinking or smoking should take place in the designated area.
e) Hands should be washed thoroughly after using radioactive material.
f) The local Radiation Safety Officer should be consulted concerning disposal requirements.

6.4 Non-disposable apparatus should be sterilised by any appropriate procedure after use, although the preferred method is to autoclave for 15 minutes at 121°C. Disposables should be autoclaved or incinerated. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with absorbent paper tissue and the contaminated areas swabbed with a standard bacterial disinfectant or 70% alcohol. Do NOT use sodium hypochlorite. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as biohazardous waste.

6.5 Do not pipette by mouth. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens and performing the assay. Wash hands thoroughly when finished.

6.6 When used in accordance with the principles of Good Laboratory Practice, good standards of occupational hygiene and the instructions stated in these Instructions for Use, the reagents supplied are not considered to present a hazard to health.

ANALYTICAL PRECAUTIONS

6.7 Do not use the reagents beyond the stated expiry date.

6.8 Latex reagents should be brought to room temperature (18 to 30°C) before use. Latex reagents which show signs of aggregation or 'lumpiness' before use may have been frozen and must not be used.

6.9 It is important when using dropper bottles that they are held vertically and that the drop forms at the tip of the nozzle. If the nozzle becomes wet an incorrect volume will form around the end and not at the tip; if this occurs dry the nozzle before progressing.

6.10 The reagents provided with each kit are matched in performance and should not be used in conjunction with reagents from a kit having a different lot number.

6.11 Do not touch the reaction areas on the cards.

6.12 Mechanical rotators may be used in this assay. The following characteristics have been found to be satisfactory:

i) Orbital rotators (also known as dimensional rotators) operating at 25 rpm with approximate rotating angle of 9 to 10.5 degrees or operating at 18 rpm with a rotating angle of 16 to 17.5 degrees.

6.13 Avoid microbial contamination of reagents as this may lead to erroneous results.

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

7.1 **CSF and Urine** should be tested as soon after collection as possible. If the fluid cannot be tested immediately it may be stored overnight at 2 to 8°C, or for longer periods frozen at –15 to –25°C. If bacteriological analyses are required on the sample, these should be set up prior to performing the latex test, to avoid contaminating the sample.

7.2 **Blood cultures** may be sampled and tested after 18 to 24 hours incubation at 37°C and/or as soon as bacterial growth is observed.

7.3 **Plate cultures** (N. meningitidis B/E. coli K1 only). Isolated colonies growing on enriched agar medium (e.g. blood, chocolate agar) may be tested after overnight incubation at 37°C. A Gram stain should be performed to assist with the interpretation of the latex test result.

8. TEST PROCEDURE

REQUIRED MATERIALS PROVIDED

See **Kit Contents**, section **5**.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Boiling water bath

Laboratory centrifuge or membrane filters (0.45 µm)

Rotator (optional – refer to **Precautions**, section **6**)

PREPARATION OF CLINICAL SPECIMENS

8.1 **CSF and urine samples** must be heated before testing by the Wellcogen procedure to minimise non-specific reactions[4,6]. The following procedures are recommended:

a) Heat the sample for 5 minutes in a boiling water bath. Cool the sample to room temperature (18 to 30°C) and clarify by centrifugation or membrane filtration (0.45 µm) prior to testing. For maximum sensitivity urine samples may be concentrated up to 25-fold in a Minicon® B-15 concentrator. Clarify as above before testing.

8.2 **Blood cultures.** Centrifuge a 1 to 2 ml sample to pellet the red blood cells, for example at 1000 g for 5 to 10 minutes. Perform the latex test on the supernatant.

If a non-specific reaction occurs with a blood culture supernatant (see **Interpretation of Results**, section **10**), heat the sample in a boiling water bath for 5 minutes, cool to room temperature (18 to 30°C), clarify by centrifugation and repeat the test.

8.3 **Plate cultures** (N. meningitidis B/E. coli K1 only). Test directly from the culture plate.

PROCEDURE

It is recommended that the section on **Precautions**, section **6**, is read carefully before performing the test.

Body fluid samples (CSF and urine) and Blood culture supernatants:

NOTE: If there is only a limited volume of test sample available, it should be used with the Test Latexes first and if a positive result is obtained the sample should be tested with the appropriate Control Latex. If sufficient sample is available, it should be tested against both the Test and Control Latexes simultaneously.

Step 1	Process the sample as described under **Preparation of Clinical Specimens**, section **8**.	
Step 2	Shake the latex reagents.	
Step 3	Place 1 drop of **Test Latex** in one circle on a Reaction Card and 1 drop of **Control Latex** into a separate circle on a Reaction Card. Ensure that the dropper bottles are held vertically to dispense an accurate drop. (See **Precautions**, section **6**).	**1 drop**
Step 4	Using a Disposable Dropper, dispense 1 drop (approximately 40 µl) of **Test Sample** next to each drop of latex.	**1 drop**
Step 5	**Mix** the contents of each circle with a Mixing Stick and spread to cover the complete area of the circle. Use a separate stick for each circle and discard it for safe disposal after use.	
Step 6	**Rock** the card slowly and **observe** for agglutination for 3 minutes, holding the card at normal reading distance (25 to 35 cm) from the eyes. Do not use a magnifying lens. Mechanical rotation (3 minutes) may be used (See **Precautions**, section **6**). The patterns obtained are clear cut and can be recognised under all normal lighting conditions.	**3 mins**
Step 7	Discard the used Reaction Card for safe disposal.	

Plate Cultures

(Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 only):

Step 1	Shake the latex reagents.	
Step 2	For each culture to be tested place 1 drop of **Test Latex** in one circle on a Reaction Card and 1 drop of **Control Latex** in a separate circle. NOTE: it is essential to use the **Control Latex** for suspected *E. coli* cultures.	**1 drop**
Step 3	Take a Mixing Stick and pick up some of the culture by touching it with the flat end of the stick. As a guide, an amount of growth roughly equivalent to 1 large colony should be picked.	**Sample of growth**
Step 4	**Emulsify** the sample of culture in the drop of **Test Latex** by rubbing with the flat end of the stick. Rub thoroughly, but not so vigorously as to damage the surface of the card. Spread the latex to cover as much of the circle as possible. Discard the Mixing Stick for safe disposal.	**1 drop**
Step 5	Using a separate stick, **emulsify** a similar sample of culture in the **Control Latex**.	
Step 6	**Rock** the card slowly and **observe** for agglutination for 20 seconds holding the card at normal reading distance (25 to 35 cm) from the eyes. Do not use a magnifying lens. The patterns obtained are clear cut and can be easily recognised under all normal lighting conditions.	**20 sec.**
Step 7	Discard the used Reaction Card for safe disposal.	

9. QUALITY CONTROL

The following procedures should be carried out initially with each shipment of test kits and with each run of test samples. In practice, a run may be defined as a testing period of up to 24 hours. Any departure from the expected results indicates there may be a problem with the reagents, which must be resolved before further use with clinical samples.

VISUAL INSPECTION

The latex suspensions should always be inspected for aggregation as they are dropped onto the test card and if there is evidence of clumping before addition of the test sample, the suspension must not be used. After prolonged storage some aggregation or drying may have occurred around the top of the bottle. If this is observed, the bottle should be shaken vigorously for a few seconds until resuspension is complete.

POSITIVE CONTROL PROCEDURE

The reactivity of the test can be confirmed by adding Polyvalent Positive Control to a reaction circle in which the test sample has not agglutinated the Test Latex after 3 minutes rotation.

Step 1	Use a Disposable Dropper to add 1 drop of Positive Control to the circle containing Test Latex and specimen.	**1 drop**
Step 2	Mix using a Mixing Stick and discard it for safe disposal.	
Step 3	Rock the card manually or by a rotator for a further 3 minutes. After this time, definite agglutination should be visible in the Test Latex.	**3 mins**
Step 4	Discard the used Reaction Card for safe disposal.	

NEGATIVE CONTROL PROCEDURE

If at least one test sample within a run gives a negative result with Test and Control Latexes (or Test Latex only where no Control Latex has been used), this constitutes a valid negative control for the reagents and no further testing is necessary.

If a test sample gives agglutination with the Test Latex and no agglutination with the Control Latex then the Test Latex should be tested either with the Negative Control or uninoculated blood culture medium, as appropriate (see below).

Step 1	Place 1 drop of Test Latex in one circle on a Reaction Card.	**1 drop**
Step 2	Dispense 1 drop of Negative Control or uninoculated blood culture medium next to the Test Latex.	**1 drop**
Step 3	Mix using a Mixing Stick and discard it for safe disposal.	
Step 4	Rock the card manually or by a rotator for a further 3 minutes. After this time, there should be no significant agglutination in the Test Latex.	**3 mins**
Step 5	Discard the used Reaction Card for safe disposal.	

For tests with CSF or urine, the Negative Control provided with the kit should be used.

For tests with blood cultures a sample of uninoculated blood culture medium from the same source as the specimen should be used as a negative control. Note: testing uninoculated media is important as false-positives can occur with some formulations of blood culture media.

Notes:

a) Previously assayed positive and negative samples, aliquoted and stored at –15 to –25°C or below, may be used as positive and negative controls respectively, if desired. The Positive Control can also be used in place of the test sample.

b) For colony identification tests (Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 only), the performance of the Test and Control Latex reagents may be confirmed using fresh, overnight cultures of reference strains of bacteria, following the method described in **Test**

Procedure. Suitable reference strains are:

ATCC 13090 – *N. meningitidis* group B (positive reactivity)

ATCC 23503 – *E. coli* type K1 (positive reactivity)

ATCC 13077 – *N. meningitidis* group A (negative reactivity)

ATCC 13090 and ATCC 23503 should give agglutination with the Test Latex and no significant agglutination in the Control Latex, ATCC 13077 should give no significant agglutination with either the Test or Control Latex.

10. RESULTS

READING OF RESULTS

A **positive** reaction is indicated by the development of an agglutinated pattern within 3 minutes (20 seconds for colony testing) of mixing the latex with the test sample, showing clearly visible clumping of the latex particles (Figure 1).

The speed of appearance and quality of agglutination depend on the strength of the antigen, varying from large clumps which appear within a few seconds of mixing, to small clumps which develop rather slowly. In culture identification, most positive reactions will be almost instantaneous.

In a **negative** reaction the latex does not agglutinate and the milky appearance remains substantially unchanged throughout the test (Figure 2). Note, however, that faint traces of granularity may be detected in negative patterns, depending on the visual acuity of the operator. In culture identification, some strains may cause a "stringy" aggregation of the latex with a milky background; this should be interpreted as a negative reaction.

NOTE: The latex particles used in the Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 Test and Control Latex suspensions are not the same as those used for the other reagents, and give a finer agglutination.

Figure 1

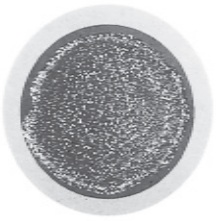


Figure 2

INTERPRETATION OF RESULTS

Positive Result

Clear agglutination of a single Test Latex accompanied by negative reactions with all other Test Latex reagents and the Control Latex indicates the presence and identity of a bacterial antigen in the test sample. As a general rule a positive result with Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 against a neonatal specimen suggests *E. coli* K1 infection; with older patients, *N. meningitidis* group B is more likely.

Negative Result

Negative reactions with all the Test Latex reagents indicates the absence of a detectable level of the bacterial antigens in the test fluid – it does not eliminate the possibility of an infection caused by these organisms, and if symptoms persist it may be desirable to perform the test on subsequent or alternative specimens, or after concentration of the urine specimen.

With a culture, lack of agglutination in Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 reagents indicates that it is unlikely to be *N. meningitidis* group B or *E. coli* K1.

Non-interpretable Result

Agglutination of more than one Test Latex reagent or corresponding Test and Control Latexes indicates a non-specific reaction. In most cases, non-specific reactions with body fluids may be eliminated by heating and clarifying the sample[4] (see **Preparation of Clinical Specimens**, section **8**). If a non-specific reaction occurs with a blood culture supernatant, heat the sample in a boiling water bath for 5 minutes, cool to room temperature (18 to 30°C), clarify by centrifugation and repeat the test.

11. PERFORMANCE LIMITATIONS

11.1 **For infant body fluids** (Group B strep only) – False negative test results may occur with specimens containing levels of antigen below the limits of detection of this device. Negative results should be followed up with selective broth culture. A positive result indicates the presence of Group B streptococcal antigen; the result does not necessarily indicate the presence of viable organisms.

11.2 **For infant body fluids** (Group B strep only) – Use of this device should not substitute for microbiological culture. Performance of this device for predicting Group B streptococcal disease from tests of infant urine has not been established.

11.3 Group B streptococcus infections occur primarily in neonates. Positive results obtained with body fluid samples from patients older than six months should be interpreted with caution. Positive results obtained with blood culture supernatants from patients of any age may be significant.

11.4 A positive result in the test depends on the presence of a detectable level of antigen in the body fluid or blood culture medium.

11.5 A few examples have been reported of unrelated bacteria which possess common antigens and, as with any immunological test system, the possibility of cross reactions occurring in the latex test can not be ruled out[1,3,8,9].

12. EXPECTED RESULTS

Samples containing a detectable level of group B streptococcal antigen, *H. influenzae* type b antigen, *S. pneumoniae* capsular antigen, *N. meningitidis* A, C, Y, W135 antigens, or *N. meningitidis* B / *E. coli* K1 antigen will give an agglutination reaction with the appropriate Test Latex.

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

13.1 Body Fluids and Blood Cultures

Clinical studies were carried out in 15 centres using body fluid samples (fresh and stored frozen) and blood culture supernatants. Both traditional and radiometric cultural techniques were used in the blood culture studies. Stored body fluid samples were not heat treated as described under **Preparation of Clinical Specimens**, section **8**. Extensive laboratory testing has shown no significant loss of antigen after heating by this procedure.

Sensitivity

The sensitivity of each latex in the kit was established from tests on samples culture positive for the homologous organism or for which there was other evidence of infection (clinical diagnosis plus other antigen test positive).

Tables 2 to 6 show the numbers of each type of specimen tested with the individual latexes together with the number of positive results obtained. The sensitivity of each latex in detecting bacterial antigen in CSF was 64.3% (9/14) for Wellcogen Strep B, 96.3% (78/81) for Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45)for Wellcogen S. pneumoniae, 71% (29/41) for Wellcogen N. meningitidis ACY W135 and 62.5% (10/16) for Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Specificity

The specificity of each of the Wellcogen reagents was evaluated using body fluid (fresh and frozen) and blood culture samples from patients with bacterial or aseptic meningitis and other unrelated conditions.

The organisms isolated from the infected samples were *H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis* including groups A, B, C, Y, *E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis*, alpha-haemolytic streptococcus, beta-haemolytic streptococcus group A, *Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii* and a coliform bacterium.

The specificity of all five Wellcogen latexes in tests on CSF was greater than 98%. Details of the number of samples tested and the specificity of each Wellcogen with each type of specimen are given in tables 2 to 6.

13.2 Plate Cultures (N. meningitidis B/E. coli K1).

N. meningitidis and *E. coli* cultures grown on an enriched agar medium were tested in hospital laboratories and In-house. All *N. meningitidis* group B and *E. coli* K1 cultures were correctly identified. There were no cross-reactions with other groups of *N. meningitidis* or other *E. coli* K antigens (Table 7). A high proportion of the *E. coli* cultures with other K antigens which were tested gave non-specific reactions (Table 7).

Table 1
Specimens which have been evaluated with individual Wellcogen latex reagents

Specimen	Wellcogen				
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/E. coli K1
CSF	+	+	+	+	+
Urine	+	–	–	–	–
Blood Culture	+	+	+	+	+
Bacterial colonies	–	–	–	–	+

\+ Data available to support this application.

– Not recommended.

Table 2
Results of clinical studies on Wellcogen Strep B

Sample	Sensitivity[a]		Specificity[b]	
	No. Tested	No. Positive	No. Tested	No. Positive
CSF	14	9	34	0
Urine	19	16	18	1[c]
Blood Culture	9	9	369	4[d]

[a] beta-haemolytic streptococcus group B isolated/indicated (clinical diagnosis/other antigen test).

[b] Bacteria other than Strep. B/no growth.

[c] *P. mirabilis* isolated.

[d] *Staph. epidermidis;* beta-haemolytic strep. group A; *E. coli* + Enterococcus*; Staph. epidermidis* + Enterococcus isolated.

Table 3
Results of clinical studies on Wellcogen H. influenzae b

Sample	Sensitivity		Specificity	
	No. Tested	No. Positive	No. Tested	No. Positive
CSF	81	78	366[a]	2[b]
Blood Culture	54	54	1566[c]	5[d]

[a] One additional CSF sample gave a non-specific reaction.

[b] One sample aseptic; *E. coli* isolated from other sample.

[c] Two additional blood culture supernatants gave non-specific reactions.

[d] One sample aseptic. Other samples grew: S*taph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca*; alpha-haemolytic streptococcus.

Table 4
Results of clinical studies on Wellcogen S. pneumoniae

Sample	Sensitivity		Specificity	
	No. Tested	No. Positive	No. Tested	No. Positive
CSF	45	39	461[a]	2[b]
Blood Culture	113	109	1512	7[c]

[a] One additional CSF gave a non-specific reaction.

[b] *Enterobacter aerogenes*; coliform bacterium.

[c] *Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis* + Enterococcus*; Strep. viridans* isolated from 4 samples.

Table 5
Results of clinical studies on Wellcogen N. meningitidis ACY W135

Sample	Sensitivity		Specificity	
	No. Tested	No. Positive	No. Tested	No. Positive
CSF	41[a]	29	423	2[b]
Blood Culture	7	7	1615	2[c]

[a] Includes 8 group A, 25 group C and 1 group Y (the remainder were not grouped).

[b] *K. aerogenes; E. coli.*

[c] *Strep. sanguis; Staph. epidermidis* + Enterococcus.

Table 6
Results of clinical studies on Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Sample	Sensitivity		Specificity	
	No. Tested	No. Positive	No. Tested	No. Positive
CSF				
N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Blood Culture:				
N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Samples stored frozen. All other samples tested fresh.

[b] Aerobic and anaerobic cultures (beta-haemolytic strep A) for same patient; coagulase negative staphylococcus.

Table 7
Identification of cultures using Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Culture[a]	+	–
N. meningitidis group A	0	16
N. meningitidis group B	10	0
N. meningitidis group C	0	18
N. meningitidis group 29E	0	8
N. meningitidis group W135	0	7
N. meningitidis group X	0	4
N. meningitidis group Y	0	5
N. meningitidis group Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli other antigens	0	13[b]

[a] Cultures identified by slide agglutination.

[b] An additional 10 cultures gave non-specific reactions.

14. BIBLIOGRAPHY

1 **Argaman, M., Liu, 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 **Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983).** Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, **6,** 65.

4 **Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Bronidox® is the registered trade name of Cognis UK Ltd.

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

For technical assistance www.thermofisher.com

X7713E. Revised January 2025 Printed in the UK

BRPT

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Kit de antígeno bacteriano Wellcogen

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. USO PRETENDIDO

O oferece uma série de testes rápidos de látex para uso na detecção qualitativa do antígeno de Streptococcus grupo B, Haemophilus influenzae tipo b, Streptococcus pneumoniae (pneumococcus), Neisseria meningitidis (meningococcus) grupos A, B, C, Y ou W135 e Escherichia coli K1 presente no fluido cérebro-espinhal (LCE) e hemocultura como consequência de infecção. O kit também pode ser usado para testar outros amostras de urina para a antígeno de Streptococcus grupo B e culturas em placa para N. meningitidis grupo B ou Escherichia coli K1. (Consulte a Tabela 1 para obter indicações suportadas por dados clínicos).

OBSERVAÇÃO: Os testes realizados diretamente nos espécimes clínicos são projetados para fins de triagem e devem ampliar, e não substituir, os procedimentos de cultura. Os resultados devem ser interpretados em conjunto com outros dados; por exemplo, sintomas, resultados de outros testes, impressões clínicas etc.

2. RESUMO

A meningite apresenta uma ampla variedade de causas possíveis, sendo infecciosas ou não infecciosas. Se a meningite bacteriana não for tratada de modo imediato e eficaz, provavelmente a evolução da doença será fatal. A identificação precoce do agente infeccioso pode ser fundamental no fornecimento ao paciente de uma quimioterapia apropriada e adequada. Muitas espécies de bactérias estão envolvidas na meningite. Streptococcus grupo B e E. coli K1 são os agentes mais comum de sepse neonatal, enquanto nos grupos de pessoas mais velhas os isolados mais comum são H. influenzae type b, S. pneumoniae e N. meningitidis grupos A, B, C, Y e W135. Esses organismos carregam antígenos de polissacarídeos específicos, sendo que uma parte se difunde no meio de cultura ou fluidos corporais, como LCE ou soro, e é excretada pela urina. Os antígenos podem ser detectados por métodos imunológicos específicos, como a contraimuno-eletroforese e a aglutinação em látex[2,5,6,10].

3. PRINCÍPIO DO TESTE

Os reagentes Wellcogen consistem em partículas de látex de poliestireno que foram revestidas por anticorpos para os antígenos bacterianos. Estas partículas de látex se aglutinam na presença de antígeno homólogo em quantidade suficiente. Os reagentes de Streptococcus e H. influenzae são específicos ao grupo B e tipo b, respectivamente, os reagentes de S. pneumoniae são sensibilizados com anticorpos purificados com um soro onivalente e os reagentes polivalentes de N. meningitidis reagem com os grupos A, C, Y e antígenos W135. O antígeno do N. meningitidis grupo B é mais difícil de ser detectado[6] e também é parecido estruturalmente e imunologicamente com o antígeno K1 da E. coli[7]; ambos podem reagir com o reagente para N. meningitidis grupo B.

4. DEFINIÇÕES DOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Consultar as Instruções de utilização (IFU)
	Limitações de temperatura (temp. de armazenamento)
Σ N	Conteúdo suficiente para <N> testes
LOT	Código de lote (número de lote)
	Utilizar até (data de expiração)
EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia
UK CA	Conformidade avaliada no Reino Unido
CE	Avaliação de conformidade europeia
	Fabricante

5. CONTEÚDO DO KIT, PREPARAÇÃO PARA USO E ARMAZENAMENTO

O Kit de antígeno bacteriano Wellcogen inclui reagentes suficientes para realizar 30 testes.

Consulte também Precauções, seção 6.

Todos os componentes devem ser armazenados entre 2 e 8 °C, pois nessas condições eles preservam a sua atividade até a data de vencimento do kit.

Antes do uso, deixe todos os reagentes em temperatura ambiente (18 a 30 °C) e misture. Retorne os reagentes não usados à geladeira, após o uso.

Instruções de uso

Cartões de reação descartáveis (2 pacotes)
Hastes para mistura descartáveis (5 maços)
Conta-gotas descartáveis (1 recipiente)
Bulbo de borracha preta (1)

TEST LATEX **Látex de teste**

Strep B (tampa rosa)
H. influenzae b (tampa azul clara)
S. pneumoniae (tampa amarela)
N. meningitidis ACY W135 (tampa cinza)
N. meningitidis B/E. coli K1 (tampa marrom)

Cinco frascos de conta-gotas, específicos para cada um dos grupos acima, contendo suspensões de partículas de látex de poliestireno a 0,5% em tampão com Bronidox® a 0,05% e/ou azida sódica a 0,1% como conservante. As partículas de látex são revestidas pelo anticorpo de coelho apropriado, conforme o rótulo, exceto para o reagente de N. meningitidis grupo B/E. coli K1, que é revestido por anticorpo monoclonal murino.

CONTROL LATEX **Látex de controle**

Cinco frascos de conta-gotas, (tampa azul escuro), contendo suspensões de partículas de látex de poliestireno a 0,5% em tampão com Bronidox® a 0,05% e/ou azida sódica a 0,1% como conservante. As partículas de látex são revestidas pela globulina de coelho apropriada ou, no caso do látex de N. meningitidis grupo B/E. coli K1, um anticorpo monoclonal murino produzido com Bordetella bronchiseptica.

As suspensões em látex são fornecidas para uso imediato e devem ser armazenadas entre 2 a 8 °C na posição vertical, até a data de vencimento do kit. Após armazenamento prolongado, alguns agregados ouressecamento do látex podem aparecer na parte superior do frasco. Caso isso aconteça, o frasco de látex deve ser vigorosamente agitado por alguns segundos, até que a ressuspensão esteja completa. NÃO CONGELE.

CONTROL + **Controle positivo polivalente**

Dois frascos (tampa azul) contendo extratos bacterianos secos por congelamento contendo antígenos de cepas representativas de cada espécie de bactéria para a qual o látex é fornecido. Contém bronopol a 0,01% antes da reconstituição e 0,004% após a reconstituição.

Reconstitua usando 3,6 ml de água destilada estéril. Após a adição de água, permita que o frasco repouse por uns minutos e, em seguida, agite para misturar. Armazene o antígeno reconstituído entre 2 e 8 °C por até 6 meses.

CONTROL – **Controle negativo**

Um frasco conta-gotas (tampa branca) contendo tampão de solução salina-glicina, pH 8,2, com Bronidox® a 0,05% como conservante.

6. PRECAUÇÕES

IVD

Os reagentes são somente para uso diagnóstico in vitro.

Somente para uso profissional.

Consulte a Ficha de informações para produtos químicos (FISPQ) e o rótulo do produto para obter mais informações sobre componentes potencialmente perigosos.

INFORMAÇÕES SOBRE SAÚDE E SEGURANÇA

6.1 Os látex de controle e teste para Streptococcus grupo B, H. influenzae tipo b, S. pneumoniae e N. meningitidis ACY W135 contêm azida sódica a 0,1%. As azidas podem reagir com o cobre e o chumbo usado em alguns sistemas de encanamento, formando sais explosivos. As quantidades usadas neste kit são pequenas; entretanto, os materiais contendo azida devem ser descartados com grandes volumes de água.

6.2 De acordo com os princípios das Boas Práticas Laboratoriais é altamente recomendável que os fluidos corporais sejam tratados como potencialmente infecciosos e manipulados com todas as precauções necessárias.

6.3 Ao manipular meio de hemocultura radiométrico, as regras básicas de segurança da radiação devem ser obedecidas. Elas incluem:

a) O material radioativo deve ser armazenado em uma área designada em um recipiente apropriado.

b) A manipulação da radioatividade deve ocorrer em uma área designada.

c) Não deve ser realizada a pipetagem de material radioativo com a boca.

d) Não é permitido comer, beber ou fumar na área designada.

e) Lave bem as mãos após usar o material radioativo.

f) Um Agente de segurança para radiação local deve ser consultado sobre os requisitos de descarte.

6.4 O equipamento não descartável deve ser esterilizado com qualquer procedimento apropriado após o uso, sendo que o método de preferência é a autoclave por 15 minutos a 121 °C. Os materiais descar táveis devem ser autoclavados ou incinerados. O derramamento de possíveis materiais infecciosos deve ser removido imediatamente com papel absorvente e as áreas contaminadas lavadas com um desinfetante bactericida padrão ou álcool a 70%. NÃO use hipoclorito de sódio. Os materiais usados para limpar derramamentos, incluindo luvas, devem ser descartados como resíduo de risco biológico.

6.5 Não pipete com a boca. Use luvas descartáveis e proteção para os olhos durante a manipulação de espécimes e a realização do ensaio. Lave bem as mãos quando tiver terminado.

6.6 Quando usados de acordo com os princípios das Boas Práticas Laboratoriais, bons padrões de higiene ocupacional e as instruções contidas nestas Instruções de uso, os reagentes fornecidos não são considerados um risco à saúde.

PRECAUÇÕES ANALÍTICAS

6.7 Não use os reagentes após a data de vencimento.

6.8 Os reagentes de látex devem ser colocados em temperatura ambiente (18 a 30 °C) antes do uso. Os reagentes de látex que mostrarem sinais de agregação ou 'grumos', antes do uso, podem ter sido congelados e não devem ser usados.

6.9 Ao usar frascos conta-gotas, é importante que eles sejam mantidos na posição vertical e que a gota se forme na ponta do bico. Se o bico se tornar úmido, um volume incorreto será formado ao redor da extremidade e não na ponta do bico; Se isso ocorrer, seque o bico antes de prosseguir.

6.10 Os reagentes fornecidos em cada kit têm correspondência de desempenho e não devem ser usados em conjunto com reagentes de um kit com número de lote diferente.

6.11 Não toque nas áreas de reação dos cartões.

6.12 Os rotatores mecânicos podem ser usados neste ensaio. As características a seguir foram consideradas satisfatórias:

i) Rotatores orbitais (também conhecidos como rotatores dimensionais) operando a 25 rpm com um ângulo de rotação de cerca de 9 a 10,5 graus ou operando a 18 rpm com um ângulo de rotação de 16 a 17,5 graus.

6.13 Evite a contaminação microbiana de reagentes, pois isto pode ocasionar resultados incorretos.

7. COLETA E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

7.1 Amostras de LCE e urina devem ser testadas logo após a coleta, se possível. Se o fluido não puder ser imediatamente testado ele deverá ser armazenado de um dia para o outro em temperaturas entre 2 a 8 °C, ou congelado por períodos mais longos entre –15 e –25 °C. Se forem necessárias análise bacteriológicas na amostra, elas devem ser realizadas antes do teste de látex, para evitar a contaminação da amostra.

7.2 Hemoculturas podem ser coletadas e testadas após 18 a 24 horas de incubação a 37 °C e/ou assim que o crescimento bacteriano for observado.

7.3 Culturas em placa (N. meningitidis B/E. coli K1 somente). Colônias isoladas crescendo em meio ágar enriquecido (por exemplo ágar chocolate, sangue) podem ser testados após incubação de um dia para o outro a 37 °C. Uma coloração de Gram deve ser realizada para ajudar na interpretação do resultado de teste de látex.

8. PROCEDIMENTO DE TESTE

MATERIAIS NECESSÁRIOS FORNECIDOS

Consulte **Conteúdo do kit**, seção **5**.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Banho-maria
Centrífuga de laboratório ou filtros de membrana (0,45 µm)
Rotor (opcional – consulte **Precauções**, seção **6**)

PREPARAÇÃO DE ESPÉCIMES CLÍNICOS

8.1 Amostras de LCE e urina devem ser aquecidas antes do teste pelo procedimento Wellcogen para minimizar reações não específicas[4,6]. Os procedimentos a seguir são recomendados:

a) Aqueça a amostra por 5 minutos em banhomaria. Resfrie a amostra em temperatura ambiente (18 a 30 °C) e clarifique por centrifugação ou filtração por membrana (0,45 µm) antes do teste. Para obter uma máxima sensibilidade, as amostras de urina podem ser concentradas em até 25 vezes em um concentrador Minicon® B-15. Antes do teste, clarifique conforme explicado acima.

8.2 Hemoculturas Centrifugue de 1 a 2 ml de amostra para peletizar as hemácias, por exemplo a 1.000 g por 5 a 10 minutos. Realize o teste de látex no sobrenadante. Se ocorrer uma reação não específica com um sobrenadante de hemocultura (consulte Interpretação dos resultados, seção 10), aqueça a amostra em banho-maria por 5 minutos, resfrie em temperatura ambiente (18 a 30 °C), clarifique por centrifugação e repita o teste.

8.3 Culturas em placa (N. meningitidis B/E. coli K1 somente). Teste diretamente na cultura em placa.

PROCEDIMENTO

Recomenda-se que a seção **Precauções**, seção **6**, seja lida atentamente, antes de realizar o teste.

Amostras de fluidos corporais e sobrenadantes de hemocultura:

OBSERVAÇÃO: Se houver somente um volume limitado de amostras de teste disponíveis, ele deve ser usado com os Látex de teste primeiro e, se um resultado positivo for obtido, a amostra deve ser testada com o Látex de controle apropriado. Se houver amostra suficiente disponível, ela deve ser testada com os Látex de controle e teste simultaneamente.

Etapa 1	Processe a amostra conforme descrito em **Preparação de espécimes clínicos.**	
Etapa 2	Agite os reagentes de látex.	
Etapa 3	Coloque 1 gota de cada **Látex de teste** ou de **Látex de controle** em um círculo separado no Cartão de reação. Certifique-se de que os frascos de conta-gotas estejam na vertical para dispensar uma gota apropriada (Consulte **Precauções**, seção **6**).	**1 gota**
Etapa 4	Usando um Conta-gotas descartável, dispense 1 gota (aproximadamente 40 µl) de Amostra de teste próxima a cada gota de látex.	**1 gota**
Etapa 5	**Misture** o conteúdo de cada círculo com uma Haste de mistura e espalhe para cobrir toda a área do círculo. Use uma haste separada para cada círculo e descarte-a de modo seguro após o uso.	
Etapa 6	Balance o cartão lentamente e observe se haverá aglutinação por 3 minutos, mantendo o cartão a uma distância normal de leitura (25 a 35 cm) em relação aos olhos. Não use uma lente de aumento. A rotação mecânica (3 minutos) pode ser usada (Consulte **Precauções**, seção **6**). Os padrões obtidos são bem definidos e podem ser reconhecidos em todas as condições normais de iluminação.	**3 minutos**
Etapa 7	Descarte o Cartão de reação de modo seguro.	

Culturas em placa:
(Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 somente):

Etapa 1	Agite os reagentes de látex.	
Etapa 2	Para cada cultura a ser testada coloque 1 gota de **Látex de teste** em um círculo no Cartão de reação e 1 gota de **Látex de controle** em um círculo separado. OBSERVAÇÃO: é essencial usar o Látex de controle para culturas com suspeita de E. coli.	**1 gota**
Etapa 3	Com uma Haste para mistura colete um pouco da cultura tocando-a com a parte mais larga da haste. Como guia, uma quantidade de crescimento crescimento equivalente a 1 grande colônia deve ser coletada.	**Amostra de crescimento**
Etapa 4	**Emulsifique** a amostra da cultura em uma gota de **Látex de teste** esfregando com a extremidade larga da haste. Esfregue completamente, mas não vigorosamente, para não danificar a superfície do cartão Espalhe o látex para cobrir a maior parte possível do círculo. Descarte a Haste para mistura de modo seguro.	
Etapa 5	Usando uma outra haste, **emulsifique** uma amostra similar de cultura no **Látex de controle**.	
Etapa 6	**Balance** o cartão lentamente e **observe** se haverá aglutinação por 20 segundos mantendo o cartão a uma distância de normal de leitura (25 a 35 cm) em relação aos olhos. Não use uma lente de aumento. Os padrões obtidos são bem definidos e podem ser facilmente reconhecidas sob todas as condições normais de iluminação.	**20 segundos**
Etapa 7	Descarte o Cartão de reação de modo seguro.	

9. CONTROLE DE QUALIDADE

Os procedimentos a seguir devem ser inicialmente realizados com cada remessa dos kits de teste e com cada processamento das amostras de teste. Na prática, um processamento pode ser definido como um período de teste de até 24 horas. Qualquer discrepância em relação aos resultados esperados indica um possível problema com os reagentes, que deve ser solucionado antes de novo uso com as amostras clínicas.

INSPEÇÃO VISUAL

As suspensões de látex devem ser sempre inspecionadas para verificar se há agregados, à medida que forem colocadas no cartão de teste, e se houver evidências de pelotas, antes da adição das amostras de teste, a suspensão não deverá ser usada. Após o armazenamento prolongado, alguns agregados ou ressecamento podem ter ocorrido ao redor da parte superior do frasco. Se isto for observado, o frasco deve ser agitado vigorosamente por alguns segundos, até que a ressuspensão esteja completa.

PROCEDIMENTO DE CONTROLE POSITIVO

A reatividade do teste pode ser confirmada ao adicionar o Controle positivo polivalente ao círculo de reação, dentro do qual a amostra não aglutinou o Látex de teste após 3 minutos de rotação.

Etapa 1	Use uma Conta-gotas descartável para adicionar 1 gota de Controle positivo ao círculo contendo o Látex de teste e o espécime.	**1 gota**
Etapa 2	Misture usando uma Haste para mistura e descarte-a de modo seguro.	
Etapa 3	Agite o cartão manualmente ou com um rotator por mais 3 minutos. Após este tempo, a aglutinação definitiva deve estar visível no Látex de teste.	**3 minutos**
Etapa 4	Descarte o Cartão de reação de modo seguro.	

PROCEDIMENTO DE CONTROLE NEGATIVO

Se pelo menos uma amostra de teste em um processamento fornecer um resultado negativo com os Látex de teste e de controle (ou Látex de teste apenas, quando nenhum látex de controle tiver sido usado), isto representa um controle negativo válido para os reagentes e nenhum teste adicional é necessário.

Se uma amostra de teste fornecer aglutinação com o Látex de teste e nenhuma aglutinação com o Látex de controle, então o Látex de teste deve ser testado com o Controle negativo ou com o meio de hemocultura não inoculado, conforme a apropriado (veja a seguir).

Etapa 1	Coloque uma gota de Látex de teste em um círculo no Cartão de reação.	**1 gota**
Etapa 2	Dispense uma gota de Controle negativo ou de meio de hemocultura não inoculado próximo ao Látex de teste.	**1 gota**
Etapa 3	Misture usando uma Haste para mistura e descarte-a de modo seguro.	
Etapa 4	Agite o cartão manualmente ou com um rotator por mais 3 minutos. Após este tempo, não deve haver aglutinação significativa no Látex de teste.	**3 minutos**
Etapa 5	Descarte o Cartão de reação de modo seguro.	

Para testes com amostras de LCE e urina, o Controle negativo fornecido com o kit deve ser usado.

Para testes com hemocultura, uma amostra de meio de hemocultura não inoculado da mesma fonte que o espécime deve ser usada como controle negativo. Observação: o meio não inoculado de teste éimportante, pois falso-positivos podem ocorrer com algumas formulações do meio de hemocultura.

Observações:

a) Amostras positivas e negativas previamente testadas, separadas em alíquotas e armazenadas entre –15 e –25 °C ou em temperaturas inferiores, podem ser usadas como controle negativo e positivo respectivamente, se desejado. O Controle positivo também pode ser usado no lugar da amostra de teste.

b) Para testes de identificação de colônia (Wellcogen para N. meningitidis B/E. coli K1 somente), o desempenho dos reagentes de Látex de teste e de controle pode ser confirmado usando culturas frescas de 24 horas de cepas de referência de bactérias, conforme o método descrito em Procedimento de teste. As cepas de referência adequadas são:

ATCC 13090 – N. meningitidis grupo B (reatividade positiva)

ATCC 23503 – E. coli tipo K1 (reatividade positiva)

ATCC 13077 – N. meningitidis grupo A (reatividade negativa)

ATCC 13090 e ATCC 23503 devem resultar em aglutinação com o Látex de teste e nenhuma aglutinação significativa com o Látex de controle, ATCC 13077 deve resultar em nenhuma aglutinação significativa com o Látex de teste e de controle.

10. RESULTADOS

LEITURA DE RESULTADOS

Uma reação **positiva** é indicada pelo surgimento de um padrão aglutinado, 3 minutos (20 segundos para teste de colônia) após a mistura do látex com a amostra de teste, evidenciando um acúmulo visível das partículas de látex (Figura 1).

A velocidade do aparecimento e a qualidade da aglutinação dependem da intensidade do antígeno, variando de acúmulos grandes que aparecem após poucos segundos de mistura a pequenos acúmulos que aparecem lentamente. Na identificação da cultura, a maior parte das reações positivas serão quase instantâneas.

Em uma reação **negativa**, o látex não se aglutina e uma aparência leitosa permanece inalterada durante todo o teste (Figura 2). Entretanto, observe que leves traços de granularidade podem ser detectados em padrões negativos, dependendo da acuidade visual do operador. Na identificação da cultura, algumas cepas podem provocar agregação "filamentosa" do látex em um fundo leitoso; isto deve ser interpretado como reação negativa.

OBSERVAÇÃO: As partículas de látex usadas nas suspensões do Látex de controle e teste do Wellcogen para N. meningitidis B/E. coli K1 não são as mesmas usadas para outros reagentes e fornecem uma aglutinação mais delicada.

Figura 1

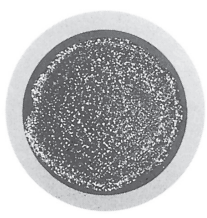
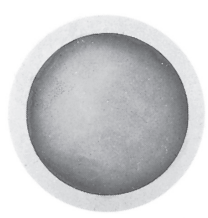


Figura 2



INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

Resultado positivo

A aglutinação evidente em um único Látex de teste acompanhada por reações negativas com outros reagentes do Látex de teste e do Látex de controle indica a presença e a identidade de um antígeno bacteriano na amostra de teste. Como regra geral, um resultado positivo com o Wellcogen para N. meningitidis B/E. coli K1 em relação a um espécime de neonatal sugere a infecção por E. coli K1; em pacientes mais velhos, o N. meningitidis grupo B é mais provável.

Resultado negativo

As reações negativas com todos os reagentes de Látex de teste indicam a ausência do nível detectável de antígenos bacterianos no fluido de teste – ela não elimina a possibilidade de uma infecção causada por esses organismos e, se os sintomas persistirem, pode ser desejável realizar o teste em espécimes alternativos ou subsequentes, ou após a concentração da urina no espécime.

Com uma cultura, a falta de aglutinação nos reagentes do Wellcogen para N. meningitidis B/E. coli K1 indica que é improvavel que seja N. meningitidis grupo B ou E. coli K1.

Resultado não interpretável

A aglutinação de mais de um reagente de Látex de teste ou Látex de teste e controle correspondentes indica uma reação não específica. Na maioria dos casos, as reações não específicas em fluidos corporais pode ser eliminada aquecendo e clarificando a amostra[4] (consulte Preparação de espécimes clínicos, seção 8). Se uma reação não específica ocorrer com um sobrenadante de hemocultura, aqueça a amostra em banho-maria por 5 minutos, resfrie-a em temperatura ambiente (18 a 30 °C), clarifique por centrifugação e repita o teste.

11. LIMITAÇÕES DE DESEMPENHO

11.1 Para fluidos corporais de criança (Streptococcus grupo B somente) – Resultados de teste falso-negativos podem ocorrer com espécimes contendo níveis de antígeno abaixo dos limites de detecção deste dispositivo. Após os resultados negativos, deverá haver cultura do caldo seletiva. Um resultado positivo indica a presença do antígeno do Streptococcus Grupo B; o resultado não indica necessariamente a presença de organismos viáveis.

11.2 Para fluidos corporais de crianças (Streptococcus grupo B somente) – O uso deste dispositivo não deve substituir a cultura microbiológica. O desempenho deste dispositivo na predição da doença causada por Streptococcus grupo B nos testes de urina infantil não foi estabelecido.

11.3 Infecções por Streptococcus grupo B ocorrem principalmente em neonatos. Os resultados positivos obtidos de amostras de fluidos corporais de pacientes com mais de seis meses de idade devem ser interpretados com precaução. Os resultados positivos obtidos de sobrenadantes de hemocultura de pacientes de qualquer idade podem ser significativos.

11.4 Um resultado positivo no teste depende da presença de níveis detectáveis de antígeno no fluido corporal ou no meio de hemocultura.

11.5 Foram relatados poucos exemplos de bactérias não relacionadas que possuem antígenos em comum e, assim como em qualquer sistema de teste imunológico, a possibilidade de reações cruzadas ocorrendo no teste de látex não pode ser descartada[1,3,8,9].

12. RESULTADOS ESPERADOS

Amostras contendo níveis detectáveis de antígeno para Streptococcus grupo B, H. influenzae tipo b, antígeno capsular para S. pneumoniae, antígenos para N. meningitidis A, C, Y, W135 ou N. meningitidis B / E. coli K1 fornecerá uma reação de aglutinação com o Látex de teste apropriado.

13. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

13.1 Fluidos corporais e hemoculturas

Estudos clínicos foram realizados em 15 centros usando amostras de fluidos corporais (frescos e armazenados congelados) e sobrenadantes de hemocultura. Ambas as técnicas de cultura radiométricas e tradicionais foram usadas nos estudos de hemocultura. As amostras de fluido corporal armazenado não foram tratadas com calor, conforme descrito em Preparação dos espécimes clínicos, seção 8. Testes laboratoriais extensivos não evidenciaram perda significativa de antígeno após o aquecimento por meio desse procedimento.

Sensibilidade

A sensibilidade de cada látex no kit foi estabelecida em testes com culturas de amostras positivas para o organismo homólogo ou para o que tinha outra evidência de infecção (diagnóstico clínico mais outro teste positivo para antígeno).

As tabelas de 2 a 6 mostram os números de cada tipo de espécime testado com os látex individuais, além do número de resultados positivos obtidos. A sensibilidade de cada látex na detecção de antígeno bacteriano em LCE foi de 64.3% (9/14) para Wellcogen para Strep B, 96.3% (78/81) para Wellcogen para H. influenzae b, 86.7% (39/45) para Wellcogen para S. pneumoniae, 71% (29/41) para Wellcogen para N. meningitidis ACY W135 e 62.5% (10/16) para Wellcogen para N. meningitidis B/E. coli K1.

Especificidade

A especificidade de cada reagente Wellcogen foi avaliada usando o fluido corporal (fresco e congelado) e amostras de hemocultura de pacientes com meningite asséptica ou bacteriana e outras condições não relacionadas.

Os organismos isolados de amostras infectadas foram H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis incluindo os grupos A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus alfa-hemolítico, Streptococcus beta-hemolítico grupo A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii e uma bactéria coliforme.

A especificidade de todos os cinco látex Wellcogen nos testes em LCE foi maior do que 98%. Os detalhes do número de amostras testadas e a especificidade de cada Wellcogen com cada tipo de espécime são fornecidos nas tabelas 2 a 6.

13.2 Culturas de placa (N. meningitidis B/E. coli K1).

Culturas N. meningitidis e E. coli desenvolvidas em um meio ágar enriquecido foram testadas em laboratórios hospitalares e internos. Todas as culturas de N. meningitidis grupo B e E. coli K1 foram identificadas corretamente. Não houve reações cruzadas com outros grupos de N. meningitidis ou outros antígenos de E. coli K (Tabela 7). Uma proporção alta de culturas de E. coli com outros antígenos K testados forneceu reações não específicas (Tabela 7).

Tabela 1

Espécimes avaliados com reagentes de látex individuais Wellcogen

Espécime	Wellcogen				
	Strep. B	H.influenzae b	S.pneumoniae	N.meningitidis ACY W135	N.meningitidis B/ E. coli K1
LCE	+	+	+	+	+
Urina	+	–	–	–	–
Hemocultura	+	+	+	+	+
Colônias bacterianas	–	–	–	–	+

Legenda
+ Dados disponíveis para suportar esta aplicação.
– Nenhum dado disponível

Tabela 2

Resultados de estudos clínicos Wellcogen para Strep B

	Sensibilidade[a]		Especificidade[b]	
Amostra	Número de testadas	Número de positivas	Número de testadas	Número de positivas
LCE	14	9	34	0
Urina	19	16	18	1[c]
Hemocultura	9	9	369	4[d]

[a] Streptococcus grupo B beta-hemolítico isolada/indicada (diagnóstico clínico/outro teste de antígeno).
[b] Bactérias diferentes de Strep. B/nenhum crescimento.
[c] P. mirabilis isolada.
[d] Staph. epidermidis; Strep. grupo A beta-hemolítico; E. coli + Enterococcus; Staph. epidermidis + Enterococcus isoladas.

Tabela 3

Resultados de estudos clínicos em Wellcogen H. influenzae b

	Sensibilidade		Especificidade	
Amostra	Número de testadas	Número de positivas	Número de testadas	Número de positivas
LCE	81	78	366[a]	2[b]
Hemocultura	54	54	1566[c]	5[d]

[a] Uma amostra de LCE adicional forneceu uma reação não específica.
[b] Uma amostra asséptica; E. coli isolada de outra amostra.
[c] Dois sobrenadantes de hemocultura adicionais forneceram reações não específicas.
[d] Uma amostra asséptica. Outras amostras desenvolveram: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; Streptococcus alfahemolítico.

Tabela 4

Resultados de estudos clínicos em Wellcogen para S. pneumoniae

	Sensibilidade		Especificidade	
Amostra	Número de testadas	Número de positivas	Número de testadas	Número de positivas
LCE	45	39	461[a]	2[b]
Hemocultura	113	109	1512	7[c]

[a] Um LCE adicional forneceu uma reação não específica.
[b] Enterobacter aerogenes; bactéria coliforme.
[c] Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus; Strep. viridans isoladas de 4 amostras.

Tabela 5

Resultados de estudos clínicos em Wellcogen para N. meningitidis ACY W135

	Sensibilidade		Especificidade	
Amostra	Número de testadas	Número de positivas	Número de testadas	Número de positivas
LCE	41[a]	29	423	2[b]
Hemocultura	7	7	1615	2[c]

[a] Inclui 8 grupo A, 25 grupo C e 1 grupo Y (o restante não foi agrupado).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus.

Tabela 6

Resultados de estudos clínicos em Wellcogen para N. meningitidis B/E. coli K1

Sensibilidade Especificidade				
Amostra	Número de testadas	Número de positivas	Número de testadas	Número de positivas
LCE N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Hemocultura: N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Amostras armazenadas congeladas. Todas as outras amostras testadas frescas.
[b] Culturas aeróbicas e anaeróbicas (Strep A beta-hemolítica) do mesmo paciente; staphylococcus coagulase negativa.

Tabela 7

Identificação de cultura usando o Wellcogen para N. meningitidis B/E. coli K1

Cultura[a]	+	–
N. meningitidis grupo A	0	16
N. meningitidis grupo B	10	0
N. meningitidis grupo C	0	18
N. meningitidis grupo 29E	0	8
N. meningitidis grupo W135	0	7
N. meningitidis grupo X	0	4
N. meningitidis grupo Y	0	5
N. meningitidis grupo Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – outros antígenos	0	13[b]

[a] Cultura identificada por aglutinação em lâmina.
[b] 10 culturas adicionais forneceram reações não específicas.

14. BIBLIOGRAFIA

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Para obter assistência técnica, www.thermofisher.com

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

IFU X7713E Revised janeiro 2025

CS

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Souprava pro stanovení bakteriálních antigenů Wellcogen

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. POUŽITÍ

Souprava pro stanovení bakteriálních antigenů Wellcogen™ Bacterial Antigen Kit obsahuje několik rychlých latexových testů určených pro kvalitativní stanovení antigenu streptokoků skupiny B, Haemophilus influenzae typu b, Streptococcus pneumoniae (pneumokok), Neisseria meningitidis (meningokok) skupiny A, B, C, Y nebo W135 a Escherichia coli K1 přítomných v mozkomíšním moku (CSF) a supernatantů hemokultur v důsledku infekce.

Soupravu lze též použít pro moči vzorky antigenu streptokoků skupiny B a testování kultivace na plotnách pro N. meningitidis skupiny B nebo Escherichia coli K1. (Indikace podložené klinickými údaji naleznete v tabulce 1).

POZNÁMKA: Testy provedené přímo z klinických vzorků jsou určeny pro screeningové účely a měly by doplnit, ale nikoli nahradit stanovení z kultur. Výsledky musejí být použity společně s dalšími údaji, např. příznaky, výsledky dalších testů, klinickým dojmem atd.

2. SHRNUTÍ

Meningitida má celou řadu možných příčin - infekčních, či neinfekčních. Pokud není bakteriální meningitida okamžitě a účinně léčena, je pravděpodobné, že bude smrtelná. Včasná identifikace infekčního agens může být vysoce přínosná při zajištění správné a přiměřené chemoterapeutické léčby pacienta. Meningitidu způsobuje mnoho bakteriálních druhů. Streptokok skupiny B a E. coli K1 jsou dvěma nejčastějšími příčinami neonatální sepse, zatímco u starších věkových skupin jsou nejčastěji izolovány H. influenzae typu b, S. pneumoniae a N. meningitidis skupiny A, B, C, Y a W135. Tyto mikroorganizmy nesou specifické polysacharidové povrchové antigeny. Velké množství těchto antigenů difunduje do kultivačních půd nebo tělesných tekutin, jako je mozkomíšní mok nebo sérum, a jsou vylučovány močí. Antigeny lze detekovat citlivými imunologickými metodami, jako je protisměrná imunoelektroforéza a latexová aglutinace[2,5,6,10].

3. PRINCIP TESTU

Činidla soupravy Wellcogen sestávají z polystyrenových latexových částic, které jsou potaženy protilátkami proti bakteriálním antigenům. Tyto latexové částice aglutinují v přítomnosti dostatečného množství homologního antigenu. Činidla pro stanovení streptokoka a H. influenzae jsou specifická pro streptokoka skupiny B, resp. H. influenzae typu b. Činidlo pro S. pneumoniae je senzibilizováno protilátkami purifikovanými z omnivalentního séra, a polyvalentní činidlo pro N. meningitidis reaguje s antigeny skupiny A, C, Y a W135. Detekce antigenu N. meningitidis skupiny B je obtížnější[6], kromě toho strukturně a imunologicky souvisí s antigenem E. coli K1[7]. Oba tyto antigeny reagují s činidlem pro N. meningitidis skupiny B.

4. DEFINICE SYMBOLŮ

REF	Katalogové číslo
IVD	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Prostudujte si návod k použití
	Teplotní omezení (teplota skladování)
Σ N	Obsah postačuje pro <N> testů
LOT	Kód dávky (číslo šarže)
	Datum použitelnosti (datum exspirace)
EC REP	Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství
UK CA	Posouzení shody ve Spojeném království
CE	Evropské posouzení shody
	Výrobce

5. OBSAH SOUPRAVY, PŘÍPRAVA K POUŽITÍ A UCHOVÁVÁNÍ

Souprava pro stanovení bakteriálních antigenů Wellcogen Bacterial Antigen Kit obsahuje činidla postačující pro provedení 30 testů.

Viz též Zvláštní upozornění, část 6.

Všechny součásti soupravy je nutné skladovat při teplotě 2 až 8 °C.

Při dodržení těchto skladovacích podmínek si uchovají reaktivitu do data ukončení použitelnosti soupravy.

Před použitím vytemperujte všechna činidla na pokojovou teplotu (18–30 °C) a promíchejte je. Po použití vraťte nepoužitá činidla do chladničky.

Návod k použití

Jednorázové reakční kartičky (2 balení)
Jednorázové míchací tyčinky (5 svazků)
Jednorázová kapátka (1 krabička)
Černý gumový balonek (1)

TEST LATEX **Testovací latexová činidla**
Streptokok B (růžový uzávěr)
H. influenzae b (světle modrý uzávěr)
S. pneumoniae (žlutý uzávěr)
N. meningitidis ACY W135 (šedý uzávěr)
N. meningitidis B/E. coli K1 (hnědý uzávěr)
Pět lahviček s kapátkem, jedna určená pro každou z výše uvedených skupin, které obsahují 0,5% suspenze polystyrenových latexových částic v pufru obsahujícím jako konzervační činidlo 0,05 % přípravku Bronidox® a/nebo 0,1 % azidu sodného. Latexové částice jsou potažené příslušnou králičí protilátkou, která je uvedena na štítku, kromě činidla pro N. meningitidis skupiny B/E. coli K1, jež obsahuje myší monoklonální protilátku.

CONTROL LATEX **Kontrolní latexová činidla**
Pět lahviček s kapátkem (s tmavě modrým uzávěrem), které obsahují 0,5 % suspenze polystyrenových latexových částic v pufru obsahujícím jako konzervační činidlo 0,05 % přípravku Bronidox® a/nebo 0,1 % azidu sodného. Latexové částice jsou potažené příslušným králičím globulinem a v případě latexového činidla N. meningitidis skupiny B/E. coli K1 myší monoklonální protilátkou proti Bordetella bronchiseptica.

Latexové suspenze se dodávají připravené k použití a je nutné je uchovávat při teplotě 2 až 8 °C ve vertikální poloze do data ukončení použitelnosti soupravy. Po delším uchovávání může dojít k agregaci nebo vyschnutí latexového činidla v horní části lahvičky. Pokud k tomu dojde, silně několik sekund zatřepejte lahvičkou s latexovým činidlem, dokud se obsah znovu zcela nerozptýlí. NEZMRAZUJTE.

CONTROL + **Polyvalentní pozitivní kontrola**
Dvě lahvičky (s modrý uzávěrem) s lyofilizovanými bakteriálními extrakty, které obsahují antigeny reprezentativních kmenů každého bakteriálního druhu, pro nějž je latexové činidlo dodáno. Obsahuje 0,01% bronopolu před rekonstitucí a 0,004 % po rekonstituci. Rekonstituujte pomocí 3,6 ml sterilní destilované vody. Po přidání vody nechte lahvičku několik minut stát a poté ji kroužením zamíchejte. Rekonstituovaný antigen uchovávejte při teplotě 2 až 8°C až po dobu 6 měsíců.

CONTROL – **Negativní kontrola**
Jedna lahvička s kapátkem (s bílým uzávěrem) obsahující glycinem pufrovaný fyziologický roztok, pH 8,2. Jako konzervační činidlo je použito 0,05 % přípravku Bronidox.

6. ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ

IVD

Činidla jsou určena pouze pro diagnostické použití in vitro.

Určeno pouze pro profesionální použití.

Informace o potenciálně nebezpečných složkách si prosím vyhledejte v příslušném bezpečnostním listu (MSDS) a na označení výrobku.

ZDRAVOTNÍ INFORMACE A INFORMACE O BEZPEČNOSTI

6.1 Testovací a kontrolní latexová činidla pro stanovení streptokoků skupiny B, H. influenzae typu b, S. pneumoniae a N. meningitidis ACY W135 obsahují 0,1 % azidu sodného. Azidy mohou reagovat s mědí a olovem v některých potrubích a vytvářet výbušné sole. Množství použitá v této soupravě jsou malá, přesto při likvidaci materiálů obsahujících azidy spláchněte tyto materiály relativně velkým množstvím vody.

6.2 V souladu s principy správné laboratorní praxe se důrazně doporučuje považovat tělesné tekutiny za potenciálně infekční a při manipulaci s nimi dodržovat všechna nezbytná bezpečnostní opatření.

6.3 Při manipulaci s radiometrickými hemokultivačními médii dodržujte základní pravidla radiační bezpečnosti. Jedná se mimo jiné o tato pravidla:

a) Radioaktivní materiál uchovávejte na vyhrazeném místě v atestované nádobě.

b) S radioaktivním materiálem je nutné manipulovat na vyhrazeném místě.

c) Radioaktivní materiál nikdy nepipetujte ústy.

d) V místě vyhrazeném pro manipulaci/uchovávání radioaktivního materiálu nejezte, nepijte ani nekuřte.

e) Po použití radioaktivního materiálu si důkladně umyjte ruce.

f) Obraťte se na místního pracovníka radiační bezpečnosti, který vám sdělí požadavky na likvidaci radioaktivního materiálu.

6.4 Přístroj určený pro opakované použití je nutné po použití sterilizovat vhodným postupem. Nejvhodnější metodou je sterilizace v autoklávu po dobu 15 minut při 121°C. Jednorázové prostředky je nutné sterilizovat v autoklávu nebo spálit. Rozlitý potenciálně infekční materiál je nutné okamžitě odstranit savými papírovými ubrousky a kontaminovaná místa omýt standardním antibakteriálním dezinfekčním činidlem nebo 70% alkoholem. NEPOUŽÍVEJTE chlornan sodný. Potřeby použité pro čištění rozlitého materiálu, včetně rukavic, je nutné likvidovat jako biologicky nebezpečný odpad.

6.5 Nepipetujte ústy. Při manipulaci se vzorky a provádění stanovení používejte jednorázové rukavice a prostředky na ochranu zraku. Po skončení práce si důkladně umyjte ruce.

6.6 Jsou-li dodaná činidla použita v souladu s principy správné laboratorní praxe, správnými standardy hygieny práce a pokyny uvedenými v tomto návodu k použití, nejsou nebezpečná pro zdraví.

ANALYTICKÉ POKYNY

6.7 Nepoužívejte činidla po uplynutí doby ukončení použitelnosti.

6.8 Před použitím nechte latexová činidla vytemperovat na pokojovou teplotu (18 až 30°C). Latexová činidla, která před použitím vykazují známky agregace nebo jsou v nich hrudky, mohla být zmrazena a nesmí být použita.

6.9 Lahvičky s kapátkem je důležité při použití držet svisle, aby se kapka vytvořila na špičce ústí kapátka. Pokud se ústí kapátka namočí, vytvoří se kapka nesprávné velikosti okolo jeho konce a nikoli na jeho špičce; pokud k tomu dojde, nejdříve ústí kapátka otřete a teprve poté pokračujte dále.

6.10 Činidla dodaná s každou soupravou mají sladěné funkční charakteristiky a nesmí být použita s činidly ze soupravy s jiným číslem šarže.

6.11 Nedotýkejte se reakčních ploch na kartičkách.

6.12 Při tomto stanovení lze použít mechanickou rotační třepačku. Bylo zjištěno, že jsou postačující následující pracovní charakteristiky:

i) Orbitální rotační třepačky (též známé jako dimenzionální třepačky) při 25 otáčkách za minutu a s přibližným úhlem rotace 9 až 10,5 stupňů nebo při 18 otáčkách za minutu a s úhlem rotace 16 až 17,5 stupňů."

6.13 Zabraňte mikrobiální kontaminaci činidel, neboť by mohla způsobit chybné výsledky.

7. ODBĚR A UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ

7.1 Vzorky mozkomíšní mok a moč je nutné podrobit stanovení co nejdříve po odběru. Pokud u tělesné tekutiny nelze provést stanovení okamžitě, lze ji skladovat přes noc při teplotě 2 až 8°C nebo déle zmrazenou při teplotě –15 až –25°C. Pokud je nutné u vzorků provést bakteriologický rozbor, je nutné tak učinit před provedením latexového testu, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku.

7.2 Vzorky pro hemokultury lze odebrat a testovat po 18 až 24hodinové inkubaci při 37°C a nebo jakmile je zjištěn bakteriální růst."

7.3 Kultivace na plotnách (pouze N. meningitidis B/E. coli K1). Izolované kolonie rostoucí na obohaceném agarovém médiu (např. krevní, čokoládový agar) lze testovat po inkubaci přes noc při teplotě 37°C. Proveďte Gramovo barvení, které napomůže při interpretaci výsledků latexového testu.

8. POSTUP TESTU

POTŘEBNÉ DODANÉ MATERIÁLY

Viz Obsah soupravy, část 5.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Vroucí vodní lázeň

Laboratorní centrifuga nebo membránové filtry (0,45 µm) Rotační třepačka (volitelné – viz Zvláštní upozornění, část 6)

PŘÍPRAVA KLINICKÝCH VZORKŮ

8.1 Vzorky mozkomíšní mok je nutné před provedením stanovení postupem Wellcogen zahřát, aby se na minimum omezily nespecifické reakce[4,6]. Doporučují se dále uvedené postupy:"

a) Zahřívejte vzorek 5 minut ve vroucí vodní lázni. Ochlaďte vzorek na pokojovou teplotu (18 až 30°C) a před provedením stanovení jej purifikujte odstředěním nebo membránovou filtrací (0,45 µm). Pro zajištění maximální citlivosti je možné vzorky moči až 25krát koncentrovat v koncentrátoru Minicon® B-15. Před provedením stanovení vzorek purifikujte postupem uvedeným výše.

8.2 Hemokultury. Centrifugujte vzorek o objemu 1 až 2 ml, aby se odstředila peleta erytrocytů, například při 1000 g po dobu 5 až 10 minut. Proveďte latexový test supernatantu. Pokud u supernatantu hemokultury nastane nespecifická reakce (viz Interpretace výsledků, část 10), zahřívejte vzorek ve vroucí vodní lázni po dobu 5 minut, ochlaďte jej na pokojovou teplotu (18 až 30°C), purifikujte jej centrifugací a test zopakujte.

8.3 Kultivace na plotnách (pouze N. meningitidis B/E. coli K1). Provádějte stanovení přímo na kultivační plotně.

POSTUP

Doporučujeme vám, abyste si před provedením testu důkladně přečetli Zvláštní upozornění, část 6.

Vzorky tělesných tekutin a supernatanty hemokultur:

POZNÁMKA: Máte-li k dispozici pouze omezené množství vzorku pro provedení stanovení, nejdříve jej použijte s testovacími latexovými činidly a pokud získáte pozitivní výsledek, proveďte test s příslušným kontrolním latexovým činidlem. Pokud máte k dispozici dostatečné množství vzorku, proveďte test s testovacími i kontrolními latexovými činidly současně.

Krok 1	Zpracujte vzorek způsobem popsaným v části **Příprava klinických vzorků.**	
Krok 2	Protřepejte latexová činidla.	
Krok 3	Nadávkujte 1 kapku každého **latexového testovacího činidla** nebo **kontrolního latexového činidla** do samostatného kroužku na reakční kartičce. Ujistěte se, že držíte lahvičku s kapátkem ve svislé poloze, abyste nadávkovali přesnou kapku. (Viz **Zvláštní upozornění**, část 6.)	**1 kapka**
Krok 4	Jednorázovým kapátkem nadávkujte 1 kapku (cca 40 µl) **testovaného vzorku** vedle každé kapky latexového činidla.	**1 kapka**
Krok 5	**Promíchejte** obsah každého kroužku míchací tyčinkou a rozetřete jej tak, aby pokrýval celou plochu kroužku. Pro každý kroužek použijte samostatnou tyčinku a po použití ji bezpečně zlikvidujte.	
Krok 6	Kývejte pomalu kartičkou a 3 minuty pozorujte, zda dojde k aglutinaci. Držte při tom kartičku v normální čtecí vzdálenosti (25 až 35 cm) od očí. Nepoužívejte lupu. Lze použít mechanické otáčení (3 minuty) (Viz Zvláštní upozornění, část 6.) Získané obrazce jsou zřetelné a lze je rozpoznat za všech normálních světelných podmínek.	**3 minuty**
Krok 7	Bezpečně zlikvidujte reakční kartičku.	

Kultivace na plotnách:
(Pouze N. meningitidis B/E. coli K1 Wellcogen):

Krok 1	Protřepejte latexová činidla.	
Krok 2	U každé kultury, jejíž stanovení má být provedeno, kápněte 1 kapku **testovacího latexového činidla** do jednoho kroužku na reakční kartičce a 1 kapku **kontrolního latexového činidla** do samostatného kroužku. POZNÁMKA: Pro suspektní kultury E. coli je nutné použít **kontrolní latexové činidlo.**	**1 kapka**
Krok 3	Uchopte míchací tyčinku a naberte trochu kultury tím, že se jí dotknete plochým koncem tyčinky. Naberte množství odpovídající zhruba 1 velké kolonii.	**Vzorek**
Krok 4	**Vytvořte** ze vzorku kultury emulzi v kapce **testovacího latexového činidla** tím, že ji rozetřete plochým koncem tyčinky. Rozetřete vzorek důkladně, ale ne tak silně, abyste poškodili povrch kartičky. Rozetřete latex tak, aby pokrýval co největší část kruhu. Bezpečně míchací tyčinku zlikvidujte.	
Krok 5	Další tyčinkou **vytvořte emulzi** z obdobného vzorku kultury v **kontrolním latexovém činidle.**	
Krok 6	**Kývejte** pomalu kartičkou a 20 sekund **pozorujte, zda dojde k** aglutinaci. Držte při tom kartičku v normální čtecí vzdálenosti (25 až 35 cm) od očí. Nepoužívejte lupu. Získané obrazce jsou jasně zřetelné a lze je rozpoznat za všech normálních světelných podmínek.	**20 sekund**
Krok 7	Bezpečně zlikvidujte reakční kartičku.	

9. KONTROLA KVALITY"

Následující postup je nutné provést zpočátku u každé zásilky souprav testů a u každé série stanovení testovaných vzorků. V praxi lze sérii definovat jako dobu provedení testu v délce až 24 hodin. Každé odchýlení od předpokládaných výsledků naznačuje, že mohl nastat problém s činidly, jenž je nutné vyřešit před dalším použitím klinických orků.

VIZUÁLNÍ KONTROLA

Latexové suspenze je vždy nutné kontrolovat, zda při jejich kápnutí na testovací kartičku nedochází k agregaci, a pokud je před přidáním testovaného vzorku patrné shlukování, nesmí být suspenze použita. Po delším uchovávání může dojít k agregaci nebo vysychání v horní části lahvičky. Pokud tomu tak je, s lahvičkou několik sekund silně zatřepejte, dokud se obsah znovu zcela nerozptýlí.

POSTUP POZITIVNÍ KONTROLY

Reaktivitu testu lze potvrdit přidáním polyvalentní pozitivní kontroly do reakčního kroužku, v němž po 3minutovém otáčení nedošlo k aglutinaci testovacího latexového činidla testovaným vzorkem.

Krok 1	Jednorázovým kapátkem přidejte 1 kapku pozitivní kontroly do kroužku obsahující testovací latexové činidlo a vzorek.	**1 kapka**
Krok 2	Promíchejte pomocí míchací tyčinky a bezpečně zlikvidujte.	
Krok 3	Protřepejte kartičku ručně nebo ve třepačce další 3 minuty. Po uplynutí této doby by měla být na testovacím latexovém činidle viditelná jasná aglutinace.	**3 minuty**
Krok 4	Bezpečně zlikvidujte reakční kartičku.	

POSTUP NEGATIVNÍ KONTROLY

Pokud alespoň jeden testovaný vzorek v rámci série poskytne negativní výsledek s testovacími a kontrolními latexovými činidly (nebo pouze s testovacím latexovým činidlem v případech, kdy nebylo použito kontrolní latexové činidlo), jedná se o platnou negativní kontrolu činidel a není nutné provádět další testy.

Pokud testovaný vzorek aglutinuje s testovacím latexovým činidlem a neaglutinuje s kontrolním latexovým činidlem, je nutné testovací latexové činidlo testovat podle potřeby buď s negativní kontrolou, nebo s neinokulovanými hemokultivačními médii (viz níže).

Krok 1	Kápněte jednu kapku testovacího latexového činidla do jednoho kroužku na reakční kartičce.	**1 kapka**
Krok 2	Nadávkujte jednu kapku negativní kontroly nebo neinokulovaného hemokultivačního média vedle testovacího latexového činidla.	**1 kapka**
Krok 3	Promíchejte pomocí míchací tyčinky a tyčinku bezpečně zlikvidujte.	
Krok 4	Protřepejte kartičku ručně nebo ve třepačce další 3 minuty. Po uplynutí této doby by nemělo docházet k významné aglutinaci testovacího latexového činidla.	**3 minuty**
Krok 5	Bezpečně zlikvidujte reakční kartičku.	

U testů Vzorky mozkomíšní mok nebo moč používejte negativní kontrolu dodanou se soupravou.

U testů hemokultur použijte jako negativní kontrolu vzorek neinokulovaného hemokultivačního média ze stejného zdroje jako vzorek. Poznámka: Testování neinokulovaného média je důležité, neboť u některých forem hemokultivačních médií se mohou projevit falešně pozitivní výsledky.

Poznámky:

a) Pozitivní a negativní vzorky, u nichž již bylo provedeno stanovení, lze rozdělit na alikvotní díly a uchovávat při teplotě –15 až –25°C nebo nižší a lze je podle potřeby použít jako pozitivní a negativní kontroly. Pozitivní kontrolu lze též použít místo testovaného vzorku.

b) U identifikačních testů kolonií (pouze u N. meningitidis B/E. coli K1 Wellcogen) lze potvrdit charakteristiky testovacích a kontrolních latexových činidel pomocí čerstvých kultur referenčních kmenů bakterií inkubovaných přes noc metodou popsanou v části Postup stanovení. Jsou vhodné následující referenční kmeny:

ATCC 13090 – N. meningitidis skupiny B (pozitivní reaktivita)

ATCC 23503 – E. coli typ K1 (pozitivní reaktivita)

ATCC 13077 – N. meningitidis skupiny A (negativní reaktivita)

Kmeny ATCC 13090 a ATCC 23503 by měly aglutinovat s testovacím latexovým činidlem a neměly by významně aglutinovat s kontrolním latexovým činidlem. Kmen ATCC 13077 by neměl významně aglutinovat s testovacím ani kontrolním latexovým činidlem.

10. VÝSLEDKY

ODEČET VÝSLEDKŮ

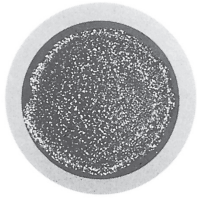
Pozitivní reakce je vyjádřena vznikem aglutinovaného obrazce během 3 minut (20 sekund při testu kolonie) od promíchání latexového činidla s testovaným vzorkem, na němž je jasně patrné shluknutí latexových částic (obr. 1).

Rychlost objevení a kvalita aglutinace závisí na koncentraci antigenu a pohybuje se od velkých shluků, které se objeví do několika sekund od promíchání, po malé shluky, které vznikají poměrně pomalu. Při identifikaci budou nejpozitivnější reakce téměř okamžité.

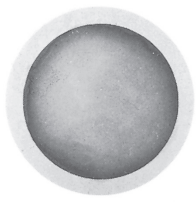
U **negativní** reakce latexové činidlo neaglutinuje a mléčný vzhled zůstává během celého testu v podstatě nezměněný (obr. 2). Pozor: U negativních obrazců však lze detekovat mírné stopy zrnitosti v závislosti na zrakové ostrosti laboranta. Při identifikaci kultury některé kmeny mohou způsobit „vláknitou“ agregaci latexového činidla s mléčným pozadím, což je nutné interpretovat jako negativní reakci.

POZNÁMKA: Latexové částice použité v suspenzích testovacího a kontrolního latexového činidla Wellcogen pro stanovení N. meningitidis B/E. coli K1 nejsou stejné jako ty, jež jsou použity pro ostatní činidla, a poskytují jemnější aglutinaci.

Obrázek 1



Obrázek 2



INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Pozitivní výsledek

Dojde ke zřetelné aglutinaci jednoho testovacího latexového činidla, která je doprovázena negativními reakcemi, se všemi dalšími latexovými testovacími činidly, a kontrolní latexové činidlo indikuje přítomnost a identitu bakteriálního antigenu v testovaném vzorku. Platí obecné pravidlo, že pozitivní výsledek s činidlem Wellcogen pro stanovení N. meningitidis B/E. coli K1 u vzorků novorozenců svědčí o infekci E. coli K1. U starších pacientů je pravděpodobnější infekce meningokokem skupiny B.

Negativní výsledek

Negativní reakce se všemi testovacími latexovými činidly indikuje nepřítomnost detekovatelné úrovně bakteriálních antigenů v testované tělní tekutině - nevylučuje však možnost infekce

způsobené těmito mikroorganizmy a pokud příznaky přetrvávají, může být žádoucí provést test dalších nebo jiných vzorků nebo test moči po zakoncentrování vzorku.

U kultur platí, že pokud nedojde k aglutinaci činidel Wellcogen pro stanovení N. meningitidis B/E. coli K1, znamená to, že se pravděpodobně nebude jednat o N. meningitidis skupiny B nebo E. coli K1.

Neinterpretovatelné výsledky

Aglutinace více než jednoho testovacího latexového činidla nebo odpovídacích testovacích a kontrolních latexových činidel indikuje nespecifickou reakci. Ve většině případů lze nespecifické reakce s tělesnými tekutinami vyloučit zahřátím a purifikací vzorku[4] (viz Příprava klinických vzorků, část 8). Pokud u supernatantu hemokultury nastane nespecifická reakce, zahřívejte vzorek ve vroucí vodní lázni po dobu 5 minut, ochlaďte jej na pokojovou teplotu (18 až 30°C), purifikujte jej centrifugací a test zopakujte.

11. FUNKČNÍ OMEZENÍ TESTU

11.1 Platí pro tělesné tekutiny kojenců (pouze streptokoky skupiny B) – Falešně negativní výsledky testu mohou vzniknout u vzorků, v nichž je hladina antigenu nižší než detekční mez tohoto stanovení. Po obdržení negativních výsledků by měla být provedena selektivní kultivace v bujonu. Pozitivní výsledek naznačuje přítomnost streptokokového antigenu skupiny B. Výsledek nemusí nutně indikovat přítomnost životaschopných mikroorganismů.

11.2 Platí pro tělesné tekutiny kojenců (pouze streptokoky skupiny B) – Použití tohoto prostředku by nemělo nahradit mikrobiologickou kultivaci. Účinnost tohoto prostředku při predikci onemocnění způsobeného streptokoky skupiny B při stanovení z kojenecké moči nebyla zjištěna.

11.3 Infekce způsobené streptokokem skupiny B se projevují především u novorozenců. Pozitivní výsledky získané ze vzorků tělesných tekutin pacientů starších než šest měsíců je nutné interpretovat opatrně. Pozitivní výsledky získané ze supernatantů hemokultur pacientů jakéhokoli věku mohou být významné.

11.4 Pozitivní výsledek testu závisí na přítomnosti detekovatelné hladiny antigenu v tělesné tekutině nebo hemokultivačním médiu.

11.5 U několika vzorků byl hlášen výskyt nesouvisejících bakterií, které mají společné antigeny, a stejně jako u jakéhokoli systému pro imunologická stanovení nelze u latexového testu vyloučit možnost zkřížené reakce[1,3,8,9].

12. PŘEDPOKLÁDANÉ VÝSLEDKY

Vzorky obsahující detekovatelnou hladinu streptokokového antigenu skupiny B, antigenu H. influenzae typu b, kapsulárního antigenu S. pneumoniae, antigenů N. meningitidis A, C, Y, W135 nebo antigenu N. meningitidis B / E. coli K1 poskytnou s příslušným testovacím latexovým činidlem aglutinační reakci.

13. FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

13.1 Tělesné tekutiny a hemokultury

Byly provedeny klinické studie na 15 pracovištích, při nichž byly použity vzorky tělesných tekutin (čerstvé vzorky a vzorky, které byly uchovávány zmrazené) a supernatanty hemokultur. Při hodnocení hemokultur byly použity tradiční i radiometrické kultivační techniky. Skladované vzorky tělesných tekutin nebyly tepelně zpracovány postupem popsaným v části 8, Příprava klinických vzorků. Rozsáhlé laboratorní testování neprokázalo při tomto postupu významný úbytek antigenu po zahřátí.

Citlivost

Citlivost každého latexového činidla v soupravě byla stanovena z testů vzorků kultur pozitivních na homologní mikroorganizmus nebo těch, u nichž existovaly další důkazy infekce (klinická diagnóza plus další pozitivní test na antigen).

Tabulky 2 až 6 ukazují počet každého typu vzorku testovaného s jednotlivými latexovými činidly společně s počtem získaných pozitivních výsledků. Citlivost každého latexového činidla při detekci bakteriálního antigenu v mozkomíšním moku činila 64.3% (9/14) u stanovení Wellcogen streptokok B, 96.3% (78/81) u Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45) u Wellcogen S. pneumoniae, 71% (29/41) u Wellcogen N. meningitidis ACY W135 a 62.5% (10/16) u Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Specifičnost

Specifičnost každého činidla Wellcogen byla hodnocena při použití vzorků tělesných tekutin (čerstvých a zmrazených) a hemokultur pacientů s bakteriální nebo aseptickou meningitidou a dalšími nesouvisejícími onemocněními.

Z infikovaných vzorků byly izolovány tyto mikroorganizmy: H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis včetně skupin A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, alfa hemolytický streptokok, beta hemolytický streptokok skupiny A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii a koliformní bakterie.

Specifičnost všech pěti latexových činidel Wellcogen ve stanoveních z mozkomíšního moku byla větší než 98%. Podrobné údaje o počtu testovaných vzorků a specifičnosti každého testu Wellcogen u každého typu vzorku jsou uvedeny v tabulkách 2 až 6.

13.2 Kultivace na plotnách (N. meningitidis B/E. coli K1).

Kultury N. meningitidis a E. coli pěstované na obohaceném agarovém médiu byly testovány v nemocničních laboratořích a interně. Všechny kultury N. meningitidis skupiny B a E. coli K1 byly správně identifikovány. Nedošlo ke zkřížené reaktivitě s dalšími skupinami N. meningitidis ani dalšími antigeny E. coli K (tabulka 7). Vysoké procento kultur E. coli s jinými antigeny K, které byly testovány, poskytlo nespecifické reakce (tabulka 7).

Tabulka 1

Vzorky, které byly hodnoceny jednotlivými latexovými činidly Wellcogen

Vzorek	Wellcogen				
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/ E. coli K1
Mozkomíšní mok	+	+	+	+	+
Moč	+	–	–	–	–
Hemokultura	+	+	+	+	+
Bakteriální kolonie	–	–	–	–	+

Legenda
+ K dispozici jsou údaje dokládající tuto aplikaci.
– Údaje nejsou k dispozici.

Tabulka 2

Výsledky klinických studií stanovení streptokoka B soupravou Wellcogen

Vzorek	Citlivost[a]		Specifičnost[b]	
	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.
Mozkomíšní mok	14	9	34	0
Moč	19	16	18	1[c]
Hemokultura	9	9	369	4[d]

[a] Izolovaný/projevený beta hemolytický streptokok skupiny B (klinická diagnóza/jiný antigenový test).
[b] Jiné bakterie než streptokok skupiny B/nulový růst.
[c] Izolován P. mirabilis.
[d] Izolován Staph. epidermidis; beta hemolytický streptokok skupiny A; E. coli + Enterococcus; Staph. epidermidis + Enterococcus.

Tabulka 3

Výsledky klinických studií stanovení H. influenzae b soupravou Wellcogen

Vzorek	Citlivost		Specifičnost	
	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.
Mozkomíšní mok	81	78	366[a]	2[b]
Hemokultura	54	54	1566[c]	5[d]

[a] Jeden další vzorek mozkomíšního moku poskytl nespecifickou reakci.
[b] Jeden vzorek byl aseptický, z dalšího vzorku byla izolována E. coli.
[c] Dva další vzorky supernatantu hemokultury poskytly nespecifické reakce.
[d] Jeden vzorek byl aseptický. V dalších vzorcích byly vykultivovány: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; alfa hemolytický streptokok.

Tabulka 4

Výsledky klinických studií stanovení S. pneumoniae soupravou Wellcogen

Vzorek	Citlivost		Specifičnost	
	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.
Mozkomíšní mok	45	39	461[a]	2[b]
Hemokultura	113	109	1512	7[c]

[a] Jeden další vzorek mozkomíšního moku poskytl nespecifickou reakci.
[b] Enterobacter aerogenes; koliformní bakterie.
[c] Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus; Strep. viridans - izolovány ze 4 vzorků.

Tabulka 5

Výsledky klinických studií stanovení N. meningitidis ACY W135 soupravou Wellcogen

Vzorek	Citlivost		Specifičnost	
	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.
Mozkomíšní mok	41[a]	29	423	2[b]
Hemokultura	7	7	1615	2[c]

[a] Zahrnuje 8 skupin A, 25 skupin C a 1 skupinu Y (zbývající část nebyla shluknuta do skupin).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus.

Tabulka 6

Výsledky klinických studií stanovení N. meningitidis B/E. coli K1 soupravou Wellcogen

Vzorek	Citlivost		Specifičnost	
	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.	Počet test. vz.	Počet pozit. vz.
Mozkomíšní mok				
N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Hemokultura:				
N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Vzorky byly uchovávány zmrazené. Všechny ostatní vzorky byly testovány v čerstvém stavu.
[b] Aerobní a anaerobní kultury (beta hemolytický streptokok A) stejného pacienta; koaguláza negativní stafylokok.

Tabulka 7

Identifikace kultur stanovením N. meningitidis B/E. coli K1 soupravou Wellcogen

Kultura[a]	+	–
N. meningitidis skupina A	0	16
N. meningitidis skupina B	10	0
N. meningitidis skupina C	0	18
N. meningitidis skupina 29E	0	8
N. meningitidis skupina W135	0	7
N. meningitidis skupina X	0	4
N. meningitidis skupina Y	0	5
N. meningitidis skupina Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – ostatní antigeny	0	13[b]

[a] Kultury identifikované sklíčkovou aglutinační metodou.
[b] Dalších 10 kultur poskytlo nespecifické reakce.

14. SEZNAM LITERATURY

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Máte-li zájem o technickou asistenci, www.thermofisher.com

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

X7713E. aktualizováno Leden 2025

DA

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Wellcogen Bakterielt antigenkit

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. TILSIGTET BRUG

Wellcogen™ Bakterielt antigenkit indeholder en serie hurtige latextests til brug ved kvalitativ detektion af antigen fra streptokok gruppe B, Hæmophilus influenzae type b, Streptococcus pneumoniae (pneumokokker), Neisseria meningitidis (meningokokker) gruppe A, B, C, Y eller W135 og Escherichia coli K1, tilstede i spinalvæsken och bloddyrkning som følge af infektion. Kittet kan også anvendes til at teste urinprøver for de antigen fra streptokok gruppe B og pladekulturer for N. meningitidis gruppe B eller Escherichia coli K1. (Se tabel 1 vedrørende indikationer, støttet af kliniske data).

BEMÆRK: Tests udført direkte på kliniske prøver er beregnet til screeningsformål og skal supplere, ikke erstatte, dyrkningsprocedurerne. Resultaterne skal anvendes sammen med andre data, f.eks. symptomer, resultater af andre tests, kliniske indtryk mm.

2. SAMMENFATNING

Meningitis kan udløses af en lang række mulige årsager, infektiøse eller ikke-infektiøse. Hvis en bakteriel meningitis ikke behandles øjeblikkeligt og effektivt, får den sandsynligvis dødelig udgang. En identifikation af det infektiøse agens kan være særdeles værdifuldt for en behandling af patienten med en korrekt og tilstrækkelig kemoterapi. Mange bakteriearter er forbundet med meningitis. Streptococcus gruppe B og E. coli K1 er blandt de mest udbredte årsager til neonatal sepsis, mens de mest udbredte isolerede arter hos højere aldersgrupper er H. influenzae type b, S. pneumoniae og N. meningitidis gruppe A, B, C, Y og W135. Disse organismer er bærere af specifikke polysaccharide overfladeantigener, hvoraf en mængde diffunderer ind i dyrkningsmediet eller kropsvæskerne, f.eks. spinalvæsken, og udskilles i urinen. Antigenerne kan detekteres ved sensitive immunologiske metoder som kontraimmun-elektroforese og latexagglutinering[2,5,6,10].

3. TESTPRINCIP

Wellcogen-reagenserne består af partikler af polystyrenlatex, der er coatet med antistoffer til de bakterielle antigener. Disse latex-partikler agglutineres ved tilstedeværelse af tilstrækkeligt homologt antigen. Streptococcus- og H. influenzae reagenser er henholdsvis gruppe B- og type b-specifikke. S. pneumoniae reagensen sensiteres med antistoffer renset for omnivalent serum, og den N. meningitidis polyvalente reagens reagerer med gruppe A, C, Y og W135 antigener. N. meningitidis gruppe B antigen er vanskeligere at detektere[6] og er også strukturelt og immunologisk relateret med E. coli K1 antigen[7], som begge reagerer med N. meningitidis gruppe B reagens.

4. SYMBOL DEFINITIONER

REF	Katalognummer
IVD	Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostisk brug
	Se brugervejledningen (Instructions for Use – IFU)
	Temperaturgrænser (opbevaringstemp.)
Σ N	Tilstrækkeligt indhold til <N> test
LOT	Batchkode (partinummer)
	Skal anvendes inden (udløbsdato)
UDI	Unik enhedsidentifikator
EC REP	Autoriseret repræsentant i EU
UK CA	Britisk overensstemmelsesvurdering
CE	Europæisk overensstemmelseserklæring
	Producent

5. KITTETS INDHOLD, KLARGØRING TIL BRUG SAMT OPBEVARING

Wellcogen Bakterielt antigenkit indeholder reagenser til udførelse af 30 tests.

Se også **Forholdsregler**, afsnit **6**.

Alle komponenter skal opbevares ved 2 til 8°C. Under disse forhold bevares de aktive indtil kittets udløbsdato.

Inden brug skal alle reagenser bringes til stuetemperatur (18 - 30 °C) og blandes. Stil ubrugte reagenser tilbage i køleskab efter brug.

Brugsanvisning

Reaktionskort til engangsbrug (2 pakker)
Blandepinde til engangsbrug (5 bundter)
Dråbeflasker til engangsbrug (1 æske)
Sort gummihætte (1)

TEST LATEX **Test-latex**

Strep B (pink hætte)
H. influenzae b (lyseblå hætte)
S. pneumoniae (gul hætte)
N. meningitidis ACY W135 (grå hætte)
N. meningitidis B/E. coli K1 (brun hætte)

Fem dråbeflasker, en til hver ovennævnte gruppe, med 0,5% suspensioner af polystyrenlatexpartikler i en buffer med 0,05% Bronidox® og/eller 0,1% natriumazid som konserveringsmiddel. Latexpartiklerne er belagt med det respektive kaninantistof som beskrevet på etiketten, med undtagelse af N. meningitidis gruppe B/E. coli K1 reagens, der er belagt med monoklonalt antistof fra mus.

CONTROL LATEX **Kontrollatexer**

5 dråbeflasker (mørkeblå hætte) med 0,5% suspension af polystyrenlatexpartikler i en buffer med 0,05% Bronidox® og/eller 0,1% natriumazid som konserveringsmiddel. Latexpartiklerne er belagt med det relevante præparat af kaninglobulin eller, i tilfælde af N. meningitidis gruppe B/E. coli, K1 latex, et monoklonalt antistof fra mus opdrættet med Bordetella bronchiseptica.

Latexsuspensionerne leveres klar til brug og skal opbevares opretstående ved 2 - 8°C, til kittets udløbsdato. Ved længere tids opbevaring kan der opstå en vis ansamling eller udtørring af latex omkring flaskens hals. I disse tilfælde skal latexflasken rystes kraftigt i nogle sekunder, til suspensionen igen er normal. MÅ IKKE FRYSES.

CONTROL + **Polyvalent positiv kontrol**

To flasker (blå hætte) med frysetørrede bakterielle ekstrakter, der indeholder antigener fra repræsentative stammer af hver bakterieart, for hvilken der leveres latex. Indeholder 0,01% bronopol før rekonstituering og 0,004% efter rekonstituering.

Rekonstituer med 3,6 ml sterilt destilleret vand. Efter tilsætning af vand hensættes flasken i nogle minutter og blandes derefter ved at vende flasken. Det rekonstituerede antigen opbevares ved 2 til 8°C i op til 6 måneder.

CONTROL – **Negativ kontrol**

En dråbeflaske (hvid hætte) med glycine saltvandsbuffer, pH 8,2, med 0,05% Bronidox® som konserveringsmiddel.

6. FORHOLDSREGLER

IVD

Reagenserne er kun til in vitro diagnostik

Må kun anvendes af uddannet personale.

Se sikkerhedsdatabladet og produktmærkningen vedrørende oplysninger om potentielt farlige komponenter.

OPLYSNINGER OM SUNDHED OG SIKKERHED

6.1 Latexpræparaterne til test og kontrol for Streptococcus gruppe B, H. influenzae type b, S. pneumoniae og N. meningitidis ACY W135 indeholder 0,1% natriumazid. Azider kan reagere med kobber og bly, der bruges i visse rørsystemer, og danne eksplosive salte. De i sættet anvendte mængder er små, men alligevel skal materialer, der indeholder azid, skylles væk med relativt store mængder vand, når de bortskaffes.

6.2 Ifølge principperne for god laboratoriepraksis anbefales det stærkt at kropsvæsker behandles som potentielt smittefarlige og håndteres med alle nødvendige sikkerhedsforanstaltninger.

6.3 Ved håndtering af medier til radiometrisk blodkultivering skal grundreglerne for strålingssikkerhed følges. Disse omfatter følgende:

a) Radioaktivt materiale skal opbevares på et afmærket område i en godkendt beholder.

b) Håndtering af radioaktivitet skal finde sted i et afmærket område.

c) Der må ikke udføres mundpipettering af radioaktivt materiale.

d) Der må ikke spises, drikkes eller ryges i det afmærkede område.

e) Hændernes skal vaskes grundigt efter anvendelse af radioaktivt materiale.

f) Den lokale sikkerhedsrepæsentant skal rådspørges vedrørende regler for bortskaffelse.

6.4 Apparatur, der ikke er til engangsbrug, skal efter brug steriliseres efter en egnet procedure, men den foretrukne metode er autoklavering i 15 minutter ved 121°C. Udstyr til engangsbrug skal autoklaveres eller brændes. Spild af potentielt smittefarlige materialer skal straks fjernes med sugende papirservietter, og de kontaminerede områder skal aftørres med et standard bakterielt desinfektionsmiddel eller 70% alkohol. Brug IKKE natriumhypochlorit. Materialer til rengøring efter spild, herunder handsker, skal bortskaffes som biologisk farligt materiale.

6.5 Pipettér ikke materialer med munden. Brug engangshandsker og beskyttelsesbriller ved håndtering af prøver og udførelse af assay. Vask hænderne grundigt, når arbejdet er færdigt.

6.6 Ved anvendelse i overensstemmelse med principperne for god laboratoriepraksis, god standard for arbejdshygiejne og vejledningerne i denne brugsanvisning betragtes de leverede reagenser ikke som helbredsfarlige.

ANALYTISKE FORHOLDSREGLER

6.7 Produktet må ikke anvendes efter den anførte udløbsdato.

6.8 Latexreagenser skal bringes til rumtemperatur (18 - 30°C) før brug. Latexreagenser, der viser tegn på ansamlinger eller 'klumpethed' før brug, kan have været frosset og må ikke bruges.

6.9 Ved anvendelse af dråbeflasker er det vigtigt at holde dem lodret, og at dråben dannes ved dysens spids. Hvis dysen bliver våd, dannes et forkert volumen ved enden og ikke ved spidsen. Hvis dette sker, aftørres dysen før der gås videre.

6.10 De reagenser, der leveres med hvert kit, er matchet i funktion og må ikke anvendes sammen med reagenser fra et kit med et andet lotnummer.

6.11 Undlad at berøre reaktionsområderne på kortene.

6.12 Mekaniske rotatorer kan anvendes i denne assay. Følgende karakteristika er fundet tilfredsstillende:

i) Orbitalrotatorer, der kører med 25 o./min. med en rotationsvinkel på ca. 9 til 10,5 grader eller med 18 o./min. og en rotationsvinkel på 16 til 17,5 grader.

6.13 Undgå mikrobiel kontamination af reagenserne, da det kan give fejlbehæftede resultater.

7. INDSAMLING OG OPBEVARING AF PRØVER

7.1 Spinalvæskenprøver og urinprover skal testes snarest muligt efter indsamling. Hvis væsken ikke kan testes straks, kan den opbevares til næste dag ved 2 til 8°C eller i længere perioder frosset ved -15 til -25°C. Hvis der kræves bakteriologiske analyser af prøven, skal disse opsættes før udførelse af latextesten for at undgå kontaminering af prøven.

7.2 Bloddyrkninger kan samles og testes efter 18 til 24 timers inkubation ved 37°C og/eller så snart der konstateres en bakteriel vækst.

7.3 Pladekulturer (kun N. meningitidis B/E. coli K1). Isolerede kolonier, der vokser på et beriget agarmedium (f.eks. blod, chokoladeagar) kan testes efter en inkubation til næste dag ved 37°C. En Gram farvning skal udføres som hjælp til fortolkning af latextestens resultat.

8. TESTPROCEDURE

MEDFØLGENDE NØDVENDIGE MATERIALER

Se **Kittets indhold, afsnit 5.**

NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER

Vandbad med kogende vand

Laboratoriecentrifuge eller membranfiltre (0,45 µm)

Rotator (valgfri – se afsnittet **Forholdsregler**, afsnit **6**)

KLARGØRING AF KLINISKE PRØVER

8.1 Spinalvæskenprøver og urinprover skal opvarmes før test med Wellcogen proceduren for at minimere ikke-specifikke reaktioner[4,6]. Følgende procedurer anbefales:

a) Til spinalvæske og urin opvarmes prøven i 5 minutter i et kogende vandbad. Nedkøl prøven til rumtemperatur (18 - 30°C) og centrifuger eller membranfiltrer (0,45 µm) før test. For en maksimal sensitivitet kan urinprøverne koncentreres op til 25 gange i en Minicon® B-15 koncentrator. Centrifuger eller membranfiltrer som beskrevet ovenfor før test.

8.2 Bloddyrkninger. Centrifuger en prøve på 1 til 2 ml for at granulere de røde blodlegemer, for eksempel ved 1000 g, i 5 til 10 minutter. Udfør latextesten på supernatanten.

I tilfælde af en ikke-specifik reaktion med en supernatant til bloddyrkning (se fortolkning af resultater, afsnit 10), skal prøven opvarmes i 5 minutter i et kogende vandbad. Afkøl til rumtemperatur (18 til 30°C), og centrifuger og gentag testen.

8.3 **Pladekulturer** (kun N. meningitidis B/E. coli K1). Test direkte fra dyrkningspladen.

PROCEDURE

Det anbefales at læse afsnittet **Forholdsregler**, afsnit **6**, omhyggeligt før testen udføres.

Kropsvæskeprøver og supernatanter til bloddyrkning:

BEMÆRK: Hvis der kun er en lille mængde testprøve til rådighed, skal den anvendes med testlatex først, og hvis der opnås et positivt resultat, skal prøven testes med den relevante kontrollatex. Hvis der er tilstrækkelig prøve til rådighed, skal den testes i forhold til både test- og kontrollatex samtidigt.

Trin 1	Klargør prøven som beskrevet under **Klargøring af kliniske prøver.**	
Trin 2	Ryst latexreagenserne.	
Trin 3	Placer 1 dråbe af hver **testlatex** eller **kontrollatex** i en separat cirkel på et reaktionskort. Kontroller, at dråbeflaskerne holdes lodret, så de afgiver en nøjagtig mængde i dråben. Se **Forholdsregler**, afsnit **6**.	**1 dråbe**
Trin 4	Afsæt med en engangspipette 1 dråbe (cirka 40 µl) **prøve** ved siden af hver dråbe latex.	**1 dråbe**
Trin 5	**Bland** indholdet af hver cirkel med en blandepind og bred det ud, så det dækker hele cirklen. Brug en separat pind til hver cirkel og kasser den til sikker bortskaffelse efter brug.	
Trin 6	**Vip** kortet langsomt og **se efter** agglutinering i 3 minutter, mens kortet holdes i normal læse- afstand (25 til 35 cm) fra øjnene. Brug ikke forstørrelsesglas. Mekanisk rotation (3 minutter) kan benyttes (Se **Forholdsregler**, afsnit 6). De fremkomne mønstre er skarpe og kan genkendes under alle normale belysningsforhold.	**3 min**
Trin 7	Kasser det brugte reaktionskort til sikker bortskaffelse.	

Pladekulturer:

(Kun Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1):

Trin 1	Ryst latexreagenserne.	
Trin 2	For hver kultur, der skal testes placeres 1 dråbe **testlatex** i én cirkel på et reaktionskort og 1 dråbe **kontrollatex** i en separat cirkel. BEMÆRK: Det er vigtigt at bruge **kontrollatex** ved mistænkte E. coli kulturer.	**1 dråbe**
Trin 3	Tag en blandepind og opsammel noget af kulturen ved at berøre den med den flade ende af blandepinden. Vejledende skal der tages en mængde af kulturen svarende til cirka 1 stor koloni.	**Prøvetagning af kultur**
Trin 4	**Emulger** prøven fra kulturen i dråben af test **latex** ved at gnubbe den med den flade ende af blandepinden. Gnub grundigt men ikke så kraftigt, at det beskadiger kortets overflade. Spred latexen, så den dækker så meget af cirklen som muligt. Kasser blandepinden til sikker bortskaffelse.	
Trin 5	**Emulger** med en separat blandepind prøven fra kulturen i **kontrollatexen**.	
Trin 6	**Vip** kortet langsomt og **se efter** agglutinering i 20 sekunder, mens kortet holdes i normal læse- afstand (25 til 35 cm) fra øjnene. Brug ikke forstørrelsesglas. De opnåede mønstre er skarpe og kan nemt genkendes under alle normale belysningsforhold.	**20 sek**
Trin 7	Kasser det brugte reaktionskort til sikker bortskaffelse.	

9. KVALITETSKONTROL

Følgende procedurer skal i starten udføres med hver forsendelse af test kits og med hver kørsel af testprøver. I praksis kan en kørsel defineres som en testperiode på op til 24 timer. Enhver afvigelse fra de forventede resultater viser, at der kan være et problem med reagenserne, der skal løses før videre brug med kliniske prøver.

VISUEL INSPEKTION

Latexsuspensionerne skal altid inspiceres for ansamlinger, når de dryppes på testkortet, og hvis der er tegn på sammenklumpning før tilsætningen af testprøven, må suspensionen ikke bruges. Ved længere tids opbevaring kan der opstå en vis ansamling eller udtørring omkring flaskens hals. Hvis dette bemærkes, skal latexflasken rystes kraftigt i nogle sekunder, til suspensionen igen er normal.

POSITIV KONTROLPROCEDURE

Testens reaktivitet kan bekræftes ved at tilsætte polyvalent positiv kontrol til en reaktionscirkel, hvor testprøven ikke har agglutineret testlatexen efter 3 minutters rotation.

Trin 1	Brug en engangspipette til at påføre 1 dråbe positiv kontrol til cirklen med testlatex og prøve	**1 dråbe**
Trin 2	Bland med en blandepind og kasser den til sikker bortskaffelse	
Trin 3	Vip kortet manuelt eller med en rotator i yderligere. 3 minutter. Efter dette tidsrum skal en definit agglutinering kunne ses i testlatexen.	**3 min**
Trin 4	Kasser det brugte reaktionskort til sikker bortskaffelse.	

NEGATIV KONTROLPROCEDURE

Hvis mindst en testprøve i en kørsel giver et negativt resultat med test- og kontrollatexer (eller kun testlatex, hvor der ikke er anvendt kontrollatex), udgør dette en gyldig negativ kontrol for reagenserne og videre test er ikke nødvendig.

Hvis en testprøve giver agglutinering med testlatexen og ingen agglutinering med kontrollatex, skal testlatexen testes enten med den negative kontrol eller uinokuleret bloddyrkningsmedium, efter hvad der er bedst egnet (se nedenstående).

Trin 1	Placer en dråbe testlatex i én cirkel på et reaktionskort.	**1 dråbe**
Trin 2	Dispenser en dråbe negativ kontrol eller uinokuleret bloddyrkningsmedium ved siden af test latexen.	**1 dråbe**
Trin 3	Bland med en blandepind og kasser den til sikker bortskaffelse.	
Trin 4	Vip kortet manuelt eller med en rotator i yderligere 3 minutter. Efter dette tidsrum må der ikke være markant agglutinering i test latexen.	**3 min**
Trin 5	Kasser det brugte reaktionskort til sikker bortskaffelse.	

Til tests med spinalvæske og urin skal den negative kontrol, der følger med kittet, anvendes.

Til test med blodkulturer skal der anvendes en prøve med uinokuleret bloddyrkningsmedium fra samme kilde som prøven som en negativ kontrol. Bemærk: Det er vigtigt at teste uinokulerede medier, da falske positive kan forekomme med visse sammensætninger i bloddyrkningsmedier.

Bemærk:

a) Tidligere analyserede positive og negative prøver, der er delt op og opbevaret ved -15 til -25°C eller derunder, kan anvendes som henholdsvis positive og negative kontroller, hvis det ønskes. Den positive kontrol kan også anvendes i stedet for testprøven.

b) Til identifikationstests (kun Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1) kan test- og kontrollatexreagensernes funktion kontrolleres ved hjælp af friske kulturer af referencestammer af bakterier, der er dyrket over natten efter den metode, der er beskrevet i Testprocedure. Egnede referencestammer er:

ATCC 13090 – N. meningitidis gruppe B (positiv reaktivitet)

ATCC 23503 – E. coli type K1 (positiv reaktivitet)

ATCC 13077 – N. meningitidis gruppe A (negativ reaktivitet)

ATCC 13090 og ATCC 23503 skal give agglutination med Test Latex og ingen signifikant agglutination i kontrollatex. ATCC 13077 skal ikke give nogen signifikant agglutination med hverken test- eller kontrollatex.

10. RESULTATER

AFLÆSNING AF RESULTATER

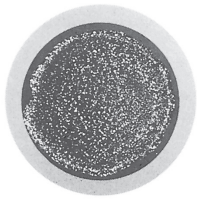
En **positiv** reaktion indikeres ved udviklingen af et agglutineret mønster inden for 3 minutter (20 sekunder for kolonitest) efter blanding af latex med testprøven med klar synlig sammenklumpning af latexpartiklerne (Figur 1).

Agglutinationens hastighed og udseende afhænger af styrken på antigenet, og varierer fra store klumper, der fremkommer efter få sekunders blanding, til små klumper, der udvikles ret langsomt. Ved identifikation af kulturer fremkommer de fleste positive reaktioner næsten øjeblikkeligt.

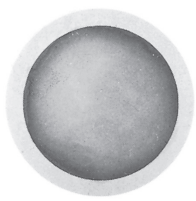
I en **negativ** reaktion agglutinerer latexen ikke, og det mælkeagtige udseende forbliver helt uændret i hele testen (Figur 2). Bemærk dog, at de svage spor af granulering kan detekteres i negative mønstre afhængigt af, hvor skarp testerens iagttagelsesevne er. I kulturidentifikation kan visse stammer give en "trådagtig" ansamling af latex med en mælkeagtig baggrund. Dette skal tolkes som en negativ reaktion.

BEMÆRK: De latexpartikler, der anvendes i Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 test og kontrollatex suspensioner er ikke de samme som dem, der bruges til de andre reagenser, og giver en finere agglutinering.

Figur 1



Figur 2



RESULTATFORTOLKNING

Positivt resultat

Klar agglutination af en enkelt testlatex ledsaget af negative reaktioner med alle andre testlatexreagenser og kontrollatex angiver tilstedeværelse og identitet af et bakterielt antigen i testprøven. Som en generel regel angiver et positivt resultat med Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 over for en neonatal prøve en infektion med E. coli K1. Hos ældre patienter er, meningococcus gruppe B mere sandsynlig.

Negativt resultat

Negative reaktioner med alle testlatexreagenser indikerer fravær af er detekterbart niveau af de bakterielle antigener i testvæsken - dette eliminerer ikke muligheden for en infektion, der er forårsaget af disse organismer, og hvis symptomerne fortsætter, kan det være ønskeligt at udføre testen på de efterfølgende eller alternative prøver eller efter koncentration af urinprøven.

I en kultur viser en manglende agglutination i Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 reagenser, at det ikke med sandsynlighed er N. meningitidis gruppe B eller E. coli K1.

Resultater der ikke kan tolkes

Agglutination af mere end én testlatexreagens eller tilsvarende test- og kontrollatex angiver en ikke-specifik reaktion. I de fleste tilfælde kan ikke-specifikke reaktioner med kropsvæsker elimineres ved opvarmning og centrifugering eller membranfiltrering af prøven[4] (**se Klargøring af kliniske prøver,** afsnit **8**). Hvis en ikke-specifik reaktion forekommer med en bloddyrkningssupernatant, opvarmes prøven i 5 minutter i et kogende vandbad. Afkøl til rumtemperatur (18 til 30°C), centrifuger og gentag testen.

11. FUNKTIONSBEGRÆNSNINGER

11.1 Vedrørende kropsvæsker fra børn (kun gruppe B strep) - Falske negative testresultater kan forekomme med prøver, der indeholder niveauer af antigen, der ligger under detektionsgrænsen for dette udstyr. Negative resultater skal opfølges med selektiv bouillon-kultur. Et positivt resultat indikerer tilstedeværelsen af gruppe B streptokok antigen. Resultatet indikerer ikke nødvendigvis tilstedeværelsen af levedygtige organismer.

11.2 Vedrørende kropsvæsker fra børn (kun gruppe B strep) – Anvendelsen af dette udstyr må ikke erstatte mikrobiologisk dyrkning. Dette udstyrs evne til at forudsige sygdomme fra gruppe B streptokokker i urin fra børn er endnu ikke fastslået.

11.3 Infektioner med gruppe B streptokokker forekommer hovedsageligt hos neonatale. Positive resultater opnået med prøver fra kropsvæsker hos patienter over seks måneder gamle skal tolkes med forbehold. Positive resultater opnået med bloddyrkningssupernatanter fra patienter i alle aldre kan være signifikante.

11.4 Et positivt resultat i testen afhænger af tilstedeværelsen af et detekterbart niveau af antigen i kropsvæsken eller bloddyrkningsmediet.

11.5 Der er rapporteret nogle få eksempler af ikke-relaterede bakterier, der har samme antigener og, som med ethvert immunologisk testsystem, kan risikoen for krydsreaktioner i latextesten ikke udelukkes[1,3,8,9].

12. FORVENTEDE RESULTATER

Prøver med et detekterbart indhold af gruppe B streptokok antigen, H. influenzae type b antigen, S. pneumoniae kapselantigen, N. meningitidis A, C, Y, W135 antigener eller N. meningitidis B / E. coli K1 antigen giver en agglutinationsreaktion med den tilsvarende testlatex.

13. FUNKTIONSEGENSKABER

13.1 Kropsvæsker og bloddyrkninger

Kliniske studier blev udført på 15 centre med kropsvæskeprøver (friske og opbevaret nedfrosset) og bloddyrkningssupernatanter. Både traditionelle og radiometriske dyrkningsteknikker blev anvendt i bloddyrkningsstudierne. De opbevarede kropsvæskeprøver blev ikke varmebehandlet som foreskrevet i afsnittet **Klargøring af kliniske prøver**, afsnit **8**. Omfattende laboratorietests har ikke påvist noget signifikant tab af antigen efter opvarmning i henhold til denne procedure.

Sensitivitet

Sensitiviteten af hver latex i kittet er fastslået gennem tests på prøver som dyrkningspositive for den homologe organisme eller for hvilken, der var anden evidens for infektion (klinisk diagnose plus positive for anden antigentest).

Tabel 2 til 6 viser tallene for hver testet prøvetype med de enkelte latextyper sammen med antallet af opnåede positive resultater. Sensitiviteten for hver latex i detektionen af bakterielt antigen i spinalvæske var 64.3% (9/14) for Wellcogen Strep B, 96.3% (78/81) for Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45) for Wellcogen S. pneumoniae, 71% (29/41) for Wellcogen N. meningitidis ACY W135 og 62.5% (10/16) for Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Specificitet

Specificiteten for hver af Wellcogen reagenserne blev evalueret med kropsvæske (frisk og frosset) og bloddyrkningsprøver fra patienter med bakteriel eller aseptisk meningitis og andre ikke-relaterede tilstande.

De organismer, der blev isoleret fra de inficerede prøver, var H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis, herunder gruppe A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, alfa-hæmolytiske streptokokker, beta-hæmolytisk streptokok gruppe A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii og en coliform bakterie.

Specificiteten for alle fem Wellcogen latexer i tests på spinalvæske var mere end 98%. Oplysninger om testede prøver og specificitet for hver Wellcogen med hver prøvetype er oplyst i tabel 2 til 6.

13.2 Pladekulturer (kun N. meningitidis B/E. coli K1).

N. meningitidis og E. coli kulturer dyrket på et beriget agarmedium blev testet på hospitalslaboratorier og in-house. Alle N. meningitidis gruppe B og E. coli K1 kulturer blev korrekt identificeret. Der var ingen krydsreaktioner med andre grupper af N. meningitidis eller andre E. coli K antigener (Tabel 7). En høj andel af de E. coli kulturer med andre K antigener, der blev testet, gav ikke-specifikke reaktioner (Tabel 7).

Tabel 1

Prøver, der er evalueret med individuelle Wellcogen latexreagenser

Prøve	Wellcogen				
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/ E. coli K1
Spinalvæske	+	+	+	+	+
Urin	+	–	–	–	–
Blodkultur	+	+	+	+	+
Bakterielle kolonier	–	–	–	–	+

Kode:
+ Data til rådighed som støtte til dette formål.
– Ingen tilgængelige data

Tabel 2

Resultater af kliniske studier på Wellcogen Strep B

	Sensitivitet[a]		Specificitet[b]	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant. positive
Spinalvæske	14	9	34	0
Urin	19	16	18	1[c]
Bloddyrkning	9	9	369	4[d]

[a] beta-hæmolytisk streptokok gruppe B isoleret/indikeret (klinisk diagnose/anden antigen test).
[b] Andre bakterier end Strep. B/ingen vækst.
[c] P. mirabilis isoleret.
[d] Staph. epidermidis; beta-hæmolytisk strep. gruppe A; E. coli + Enterococcus; Staph. epidermidis + Enterococcus isoleret.

Tabel 3

Resultater af kliniske studier på Wellcogen H. influenzae b

	Sensitivitet		Specificitet	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant. positive
Spinalvæske	81	78	366[a]	2[b]
Bloddyrkning	54	54	1566[c]	5[d]

[a] En ekstra spinalvæskeprøve gav en ikke-specifik reaktion.
[b] En prøve aseptisk. E. coli isoleret fra anden prøve.
[c] To ekstra bloddyrkningssupernatanter gav ikke-specifikke reaktioner.
[d] En prøve aseptisk. Andre prøver opformerede: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; alfa-hæmolytisk streptokok.

Tabel 4

Resultater af kliniske studier på Wellcogen S. pneumoniae

	Sensitivitet		Specificitet	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant. positive
Spinalvæske	45	39	461[a]	2[b]
Bloddyrkning	113	109	1512	7[c]

[a] En ekstra spinalvæske gav en ikke-specifik reaktion.
[b] Enterobacter aerogenes; coliform bakterie.
[c] Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus; Strep. viridans isoleret fra 4 prøver.

Tabel 5

Resultater af kliniske studier på Wellcogen N. meningitidis ACY W135

	Sensitivitet		Specificitet	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant. positive
Spinalvæske	41[a]	29	423	2[b]
Bloddyrkning	7	7	1615	2[c]

[a] Indeholder 8 gruppe A, 25 gruppe C og 1 gruppe Y (øvrige var ikke grupperet).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus.

Tabel 6

Resultater af kliniske studier på Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

	Sensitivitet		Specificitet	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant. positive
Spinalvæske				
N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Bloddyrkning:				
N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Prøver opbevaret frosne. Alle andre prøver er testet i frisk tilstand.
[b] Aerobiske og anaerobiske kulturer (beta-hæmolytisk strep A) til samme patient. Koagulase negativ staphylococcus.

Tabel 7

Identifikation af kulturer ved hjælp af Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Kultur[a]	+	–
N. meningitidis gruppe A	0	16
N. meningitidis gruppe B	10	0
N. meningitidis gruppe C	0	18
N. meningitidis gruppe 29E	0	8
N. meningitidis gruppe W135	0	7
N. meningitidis gruppe X	0	4
N. meningitidis gruppe Y	0	5
N. meningitidis gruppe Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – andre antigener	0	13[b]

[a] Kulturer identificeret ved slide agglutination.
[b] Yderligere 10 kulturer gav ikke-specifikke reaktioner.

14. BIBLIOGRAFI

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

Kontakt den lokale distributør vedrørende teknisk assistance.
www.thermofisher.com

Brugervejledning X7713E, revideret Januar 2025

DE

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Wellcogen Bakterienantigen-Kit

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. VERWENDUNGSZWECK

Der Wellcogen™ Bakterienantigen-Kit enthält eine Reihe von Latex- Schnelltests zum qualitativen Nachweis der Antigene von Streptokokken der Gruppe B, Haemophilus influenzae Typ b, Streptococcus pneumoniae (Pneumokokken), Neisseria meningitidis (Meningokokken) der Gruppen A, B, C, Y oder W135 und Escherichia coli K1, die infolge einer Infektion in Zerebrospinalflüssigkeit (Liquor) und Blutkultur vorliegen. Mit dem Kit können auch urin auf die Antigene von Streptokokken der Gruppe B getestet werden. Im Fall von N. meningitidis Gruppe B oder Escherichia coli K1 können mit dem Kit Kulturplatten getestet werden. (Durch klinische Daten gestützte Indikationen: siehe Tabelle 1).

HINWEIS: Tests, die direkt an klinischen Proben durchgeführt werden, sind für Screening-Zwecke vorgesehen und sollten Kulturverfahren nicht ersetzen, sondern ergänzen. Die Ergebnisse müssen im Zusammenhang mit anderen Daten interpretiert werden, z. B. Symptomen, Ergebnissen weiterer Tests, dem klinischen Eindruck usw.

2. ZUSAMMENFASSUNG

Es gibt eine Vielzahl möglicher Ursachen für eine Meningitis, sowohl infektiöser als auch nicht-infektiöser Natur. Wird eine bakterielle Meningitis nicht schnell und wirksam behandelt, verläuft sie mit hoher Wahrscheinlichkeit tödlich. Die frühe Identifizierung des infektiösen Erregers ist eine wesentliche Voraussetzung dafür, die Patienten auf geeignete und hinreichende Weise mit Antibiotika zu behandeln. Eine Meningitis kann von vielen verschiedenen Bakterienspezies ausgelöst werden. Streptokokken der Gruppe B und E. coli K1 sind zwei der Erreger, welche die meisten Fälle neonataler Sepsis verursachen, wohingegen bei Patienten höheren Alters H. influenzae Typ b, S. pneumoniae und N. meningitidis der Gruppen A, B, C, Y und W135 die häufigsten Isolate bilden. Diese Organismen tragen spezifische Polysaccharid-Oberflächenantigene, von denen ein Teil ins Kulturmedium bzw. in Körperflüssigkeiten wie Liquor oder Serum diffundiert bzw. in den Urin exkretiert wird. Die Oberflächenantigene können durch empfindliche immunologische Methoden nachgewiesen werden, wie z. B. die Gegenstromelektrophorese und den Latex-Agglutinationstest[2,5,6,10].

3. TESTPRINZIP

Die Wellcogen-Reagenzien bestehen aus Polystyren-Latexpartikeln, die mit Antikörpern gegen die bakteriellen Antigene beschichtet sind. Diese Latexpartikel agglutinieren in Gegenwart einer ausreichenden Menge an homologem Antigen. Die Reagenzien zum Nachweis von Streptokokken und H. influenzae sind spezifisch für Gruppe B bzw. Typ b; das Reagenz zum Nachweis von S. pneumoniae ist mit Antikörpern sensibilisiert, die aus einem omnivalenten Serum aufgereinigt wurden, und das polyvalente Reagenz für N. meningitidis reagiert mit den Antigenen der Gruppen A, C, Y und W135. Das Gruppe-B-N. meningitidis-Antigen ist schwerer nachzuweisen[6] und mit dem Antigen von E. coli K1 immunologisch verwandt[7]; beide reagieren mit dem Reagenz für N. meningitidis Gruppe B.

4. SYMBOLLEGENDE

REF	Bestellnummer
IVD	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Temperatureinschränkung (Lagertemp.)
Σ N	Inhalt ausreichend für <N> Tests
LOT	Chargenbezeichnung (Chargennummer)
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Importeur
EC REP	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
UK CA	Britische Konformitätsbewertung
CE	Europäische Konformitätsbewertung
	Hersteller

5. KIT-KOMPONENTEN, VORBEREITUNG FÜR DEN GEBRAUCH UND LAGERUNG

Der Wellcogen Bakterienantigen-Kit enthält ausreichend Reagenzien für 30 Tests.

Siehe auch **Vorsichtsmaßnahmen**, Abschnitt **6**.

Alle Komponenten müssen bei 2 bis 8 °C aufbewahrt werden; bei dieser Temperatur behalten sie ihre Aktivität bis zum Verfallsdatum des Kits.

Vor Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur (18-30 °C) bringen und mischen. Nicht benutztes Reagenz nach Gebrauch wieder im Kühlschrank lagern.

Gebrauchsanweisung

Einweg-Reaktionskarten (2 Packungen)
Einweg-Mischstäbchen (5 ´er Paket)
Einweg-Tropffläschchen (1 Behälter)
Gummi-Pipettenhütchen, schwarz (1)

TEST LATEX **Test-Latexreagenzien**

Strep B (rosafarbener Deckel)
H. influenzae b (hellblauer Deckel)
S. pneumoniae (gelber Deckel)
N. meningitidis ACY W135 (grauer Deckel)
N. meningitidis B/E. coli K1 (brauner Deckel)

Fünf Tropffläschchen mit einer 0,5%igen Suspension von Polystyren-Latexpartikeln, die jeweils spezifisch für eine der oben erwähnten Antigen-Gruppen sind, in Puffer mit 0,05 % Bronidox® und/oder 0,1 %Natriumazid als Konservierungsmittel. Die Latexpartikel sind, wie auf dem Etikett angegeben, mit dem entsprechenden Kaninchen-Antikörper beschichtet, ausgenommen das Reagenz für N. meningitidis Gruppe B/E. coli K1, das mit einem monoklonalen Antikörper aus der Maus beschichtet ist.

CONTROL LATEX **Kontroll-Latexreagenzien**

Fünf Tropffläschchen (dunkelblauer Deckel) mit einer 0,5%igen Suspension von Polystyren-Latexpartikeln in Puffer mit 0,05 % Bronidox® und/oder 0,1 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Die Latexpartikel sind mit einer geeigneten Präparation von Kaninchen-Globulinen oder, im Fall der Latexpartikel für N. meningitidis Gruppe B/ E. coli K1, mit einem monoklonalen Antikörper gegen Bordetella bronchiseptica aus der Maus beschichtet.

Die Latexsuspensionen werden gebrauchsfertig geliefert und müssen bis zum Verfallsdatum bei 2 bis 8 °C stehend gelagert werden. Nach längerer Lagerung kann es oben in den Fläschchen zu geringfügiger Aggregation oder zu leichtem Eintrocknen der Latexsuspension kommen. In diesem Fall die Latexsuspension in den Fläschchen mehrere Sekunden lang heftig schütteln, bis sie vollständig resuspendiert ist. NICHT EINFRIEREN.

CONTROL + **Polyvalente Positivkontrolle**

Zwei Fläschchen (Blauer Deckel) mit gefriergetrockneten Bakterienextrakten, die Antigene von repräsentativen Stämmen jeder der Bakterienspezies enthalten, für die Latexpartikel im Kit enthalten sind. Enthält 0,01 % Bronopol vor und 0,004 % nach der Rekonstitution.

Zur Rekonstitution 3,6 ml steriles Wasser hinzufügen. Nach dem Hinzufügen von Wasser das Röhrchen einige Minuten stehen lassen, dann durch Schwenken mischen. Das rekonstituierte Antigen kann bei 2 bis 8 °C bis zu 6 Monate lang aufbewahrt werden.

CONTROL + **Negativkontrolle**

Ein Tropffläschchen (weißer Deckel) mit Glycin gepufferter Kochsalzlösung, pH 8,2, und 0,05 % Bronidox® als Konservierungsmittel.

6. VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD

Die Reagenzien sind nur für die in-vitro-Diagnostik bestimmt.

Nur zur Verwendung durch Fachpersonal.

Informationen zu potenziell gefährlichen Komponenten dem

Sicherheitsdatenblatt oder der Produktkennzeichnung entnehmen.

GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSINFORMATIONEN

6.1 Die Test- bzw. Kontroll-Latexreagenzien für Streptokokken der Gruppe B, H. influenzae Typ b, S. pneumoniae und N. meningitidis ACY W135 enthalten 0,1 % Natriumazid. Azide können mit Kupfer und Blei reagieren, das in manchen Rohrleitungssystemen enthalten ist, und explosive Salze bilden. Die in diesem Kit verwendeten Mengen an Azid sind gering; trotzdem sollte beim Entsorgen azidhaltiger Materialien mit reichlich Wasser nachgespült werden.

6.2 In Übereinstimmung mit den Grundsätzen der Guten Laborpraxis empfiehlt es sich dringend, Körperflüssigkeiten als potenziell infektiös zu betrachten und daher mit aller nötigen Sorgfalt zu behandeln.

6.3 Bei der Handhabung von Blutkulturmedien für die radiometrische Untersuchung müssen die Grundregeln der Strahlensicherheit befolgt werden. Dies bedeutet:

a) Radioaktives Material muss in einem speziell dafür vorgesehenen Raum in einem für diesen Zweck zugelassenen Behälter gelagert werden.

b) Der Umgang mit radioaktiven Materialien muss in einem speziell dafür bestimmten Bereich erfolgen.

c) Radioaktive Materialien dürfen nicht mit dem Mund pipettiert werden.

d) In dem für den Umgang mit radioaktiven Materialien bestimmten Bereich darf nicht gegessen, getrunken oder geraucht werden.

e) Nach dem Umgang mit radioaktivem Material sind die Hände gründlich zu waschen.

f) Im Hinblick auf die Vorschriften für die Entsorgung radioaktiver Materialien ist der Strahlenschutzbeauftragte vor Ort zu Rate zu ziehen.

6.4 Wiederverwendbare Geräte müssen nach Gebrauch mithilfe einer geeigneten Methode sterilisiert werden, vorzugsweise 15 Minuten im Autoklaven bei 121 °C. Einwegartikel müssen autoklaviert oder verbrannt werden. Wurde potenziell infektiöses Material verschüttet, muss dieses sofort mit einem saugfähigen Papiertuch entfernt werden und der kontaminierte Bereich muss mit einem gegen Bakterien wirksamen Standarddesinfektionsmittel oder mit 70%igem Alkohol desinfiziert werden. KEIN Natriumhypochlorit verwenden. Materialien, die zum Entfernen des verschütteten Materials verwendet wurden, müssen als biogefährlicher Abfall entsorgt werden.

6.5 Nicht mit dem Mund pipettieren. Beim Handhaben der Proben und bei der Durchführung des Assays Einweg-Handschuhe und Schutzbrille tragen. Nach Abschluss des Assays gründlich die Hände waschen.

6.6 Wenn die im Kit enthaltenen Reagenzien entsprechend den Regeln der Guten Laborpraxis, den Standards der Arbeitshygiene und der in dieser Gebrauchsanweisung enthaltenen Anleitung verwendet werden, gehen keine gesundheitlichen Gefahren von ihnen aus.

WICHTIGE HINWEISE ZUR HANDHABUNG

6.7 Die Reagenzien nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.

6.8 Die Latexreagenzien müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18 bis 30 °C) gebracht werden. Latexreagenzien, die vor Gebrauch Anzeichen einer Aggregation oder Verklumpung aufweisen, waren möglicherweise gefroren und dürfen nicht verwendet werden.

6.9 Die Tropffläschchen müssen bei Gebrauch senkrecht gehalten werden, so dass sich die Tropfen an der Spitze des Tropfers bilden. Wenn der Tropfer benetzt wird, bilden sich Tropfen mit einem inkorrekten Volumen am Ende und nicht an der Spitze. In diesem Fall den Tropfer vor dem Fortfahren zunächst trocknen.

6.10 Die im Kit enthaltenen Reagenzien sind in Bezug auf ihre Leistungsfähigkeit aufeinander abgestimmt und dürfen nicht zusammen mit Reagenzien aus Kits mit anderen Chargennummern verwendet werden.

6.11 Den Reaktionsabschnitt auf den Karten nicht berühren.

6.12 Bei diesem Assay dürfen mechanische Schüttler verwendet werden. Rührer mit folgenden Eigenschaften sind geeignet:

i) Wippschüttler bei einer Geschwindigkeit von 25 U/min und mit einem Winkel von etwa 9 bis 10,5 Grad oder bei einer Geschwindigkeit von 18 U/min und mit einem Winkel von 16 bis 17,5 Grad.

6.13 Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden, da dies zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann.

7. PROBENAHME UND LAGERN VON PROBEN

7.1 Proben von Liquor und Urin sollten so bald wie möglich nach der Probenahme getestet werden. Wenn ein sofortiger Test der Körperflüssigkeit nicht möglich ist, kann sie über Nacht bei bei 2 bis 8 °C oder über längere Zeiträume bei -15 bis -25 °C gelagert werden. Sollen mit der Probe bakteriologische Analysen durchgeführt werden, müssen diese vor dem Latextest erfolgen, damit eine Kontamination der Probe vermieden wird.

7.2 Blutkulturen können nach einer Inkubationszeit von 18 bis 24 Stunden bei 37 °C genommen und getestet werden und/ oder sobald Bakterienwachstum erkennbar ist.

7.3 Plattenkulturen (nur N. meningitidis B/E. coli K1). Isolierte Kolonien, die auf angereichertem Agarmedium gezogen wurden (z. B. Blut-, Kochblutagar), können nach einer Inkubation über Nacht bei 37 °C getestet werden. Eine Gram- Färbung sollte, um die Interpretation des Latextests zu erleichtern, ebenfalls durchgeführt werden.

8. TESTVERFAHREN

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Siehe **Inhalt des Kits**, Abschnitt **5**.

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Siedendes Wasserbad

Laborzentrifuge oder Membranfilter (0,45 µm)

Schüttler (optional; siehe **Vorsichtsmaßnahmen**, Abschnitt **6**)

VORBEREITUNG KLINISCHER PROBEN

8.1 Proben von Liquor und Urin müssen vor dem Test gemäß dem Wellcogen-Verfahren erhitzt werden, um unspezifische Reaktionen auf ein Minimum zu beschränken[4,6]. Die folgenden Methoden sind empfehlenswert:

a) Liquor und Urin: Die Probe 5 Minuten lang in einem siedenden Wasserbad erhitzen. Die Probe auf Raumtemperatur (18 bis 30 °C) abkühlen und vor dem Test durch Zentrifugieren oder Membranfiltration (0,45 µm) klären. Um die Nachweisempfindlichkeit zu erhöhen, können Urinproben in einem Minicon® B-15 Konzentrator bis zu 25-fach aufkonzentriert werden. Vor dem Test wie oben beschrieben klären.

8.2 **Blutkulturen**. Eine Probe von 1 bis 2 ml zentrifugieren, um die Erythrozyten abzutrennen, z. B. 5 Minuten bei 1000 g. Den Latextest mit dem Überstand durchführen.

Wenn ein Blutkulturüberstand eine unspezifische Reaktion zeigt (siehe **Interpretation der Ergebnisse**, Abschnitt **10**), die Proben 5 Minuten in einem siedenden Wasserbad erhitzen, auf Raumtemperatur (18 bis 30 °C) abkühlen, durch Zentrifugieren klären und den Test wiederholen.

8.3 Plattenkulturen (nur N. meningitidis B/E. coli K1). Kolonien direkt von der Kulturplatte testen.

VERFAHREN

Es empfiehlt sich, vor der Testdurchführung die **Vorsichtsmaßnahmen**, Abschnitt **6**, genau durchzulesen.

Proben von Körperflüssigkeiten und Überstände von Blutkulturen:

HINWEIS: Wenn nur eine begrenzte Probenmenge zur Verfügung steht, sollte zunächst der Test mit dem Test-Latexreagenz durchgeführt werden. Bei einem positiven Ergebnis sollte die Probe anschließend mit dem entsprechenden Kontroll-Latexreagenz getestet werden. Wenn ausreichend Probe vorhanden ist, sollten der Test mit dem Test- und dem Kontroll-Latexreagenz gleichzeitig durchgeführt werden.

Schritt 1	Proben vorbereiten wie unter **Vorbereitung klinischer Proben** beschrieben.	
Schritt 2	Die Latexreagenzien schütteln.	
Schritt 3	Je 1 Tropfen von jedem **Latex-Test**- bzw. **Latex- Kontrollreagenz** in einen separaten Kreis auf der Reaktionskarte auftragen. Darauf achten, die Tropffläschchen senkrecht zu halten, damit ein Tropfen der richtigen Größe abgegeben wird. (Siehe **Vorsichtsmaßnahmen**, Abschnitt **6**).	**1 Tropfen**
Schritt 4	Mit einem Einweg-Tropfer 1 Tropfen (etwa 40 µl) **Probe** neben jeden Tropfen Latexreagenz auftragen.	**1 Tropfen**
Schritt 5	Den Inhalt der Kreise mit einem Mischstäbchen **mischen** und über die gesamte Fläche des jeweiligen Kreises verteilen. Für jeden Kreis ein eigenes Mischstäbchen verwenden und dieses nach Gebrauch sicher entsorgen.	
Schritt 6	Die Karte langsam **schwenken** und 3 Minuten lang auf Agglutination hin **beobachten**, indem die Karte in normalem Leseabstand (25 bis 35 cm) vor die Augen gehalten wird. Kein Vergrößerungsglas verwenden. Mechanisches Schütteln der Karte (3 Minuten) ist zulässig (Siehe **Vorsichtsmaßnahmen**, Abschnitt **6**). Die Muster sind deutlich erkennbar und können unter allen normalen Lichtverhältnissen abgelesen werden.	**3 min**
Schritt 7	Die verwendete Reaktionskarte sicher entsorgen.	

Plattenkulturen:
(nur Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1):

Schritt 1	Die Latexreagenzien schütteln.	
Schritt 2	Für jede zu testende Kultur 1 Tropfen **Test-Latexreagenz** in einen Kreis auf einer Reaktionskarte auftragen sowie 1 Tropfen **Kontroll-Latexreagenz** in einen separaten Kreis. HINWEIS: Das entsprechende **Latex-Kontrollreagenz** muss unter allen Umständen verwendet werden, wenn in einer Kultur E. coli vermutet werden.	**1 Tropfen**
Schritt 3	Mit einem Mischstäbchen einen Teil der Kultur durch Berühren mit dem flachen Ende des Stäbchens aufnehmen. Es sollte etwa die Menge aufgenommen werden, die 1 großen Kolonie entspricht.	**Probe der Kultur**
Schritt 4	Die Probe der Bakterienkultur n dem aufgetragenen Tropfen **Test-Latexreagenz emulgieren** durch Reiben mit dem flachen Ende des Stäbchens. Gründlich, aber nicht so heftig reiben, dass die Oberfläche der Karte beschädigt wird. Verteilen Sie das Latexreagenz so, dass Kreisfläche so vollständig wie möglich ausgefüllt wird. Das Mischstäbchen sicher entsorgen.	
Schritt 5	Mit einem neuen Stäbchen eine ähnliche Probe der Kultur **emulgieren**, dieses Mal im aufgetragenen Tropfen **Latex-Kontrollreagenz.**	
Schritt 6	Die Karte langsam **schwenken** und 20 Sekunden lang auf Agglutination hin **beobachten**, indem die Karte in normaler Leseentfernung (25 bis 35 cm) vor die Augen gehalten wird. Kein Vergrößerungsglas verwenden. Die erhaltenen Muster sind deutlich und können unter allen normalen Lichtverhältnissen leicht abgelesen werden.	**20 s**
Schritt 7	Die verwendete Reaktionskarte sicher entsorgen.	

9. QUALITÄTSKONTROLLE

Die folgenden Verfahren werden anfangs bei jedem neu gelieferten Testkit sowie bei jedem Testdurchlauf mit Proben durchgeführt. In der Praxis kann ein Testdurchlauf als ein Test-Zeitraum von bis zu 24 Stunden definiert werden. Jede Abweichung von den erwarteten Ergebnissen kann auf ein Problem mit den Reagenzien hindeuten, das gelöst werden muss, bevor weitere klinische Proben getestet werden.

SICHTPRÜFUNG

Die Latexsuspensionen müssen stets auf Aggregation hin überprüft werden, wenn sie auf die Testkarte aufgetragen werden. Wenn eine Suspension bereits vor dem Hinzufügen zu der zu testenden Probe Anzeichen einer Verklumpung aufweisen, dürfen sie nicht verwendet werden. Nach längerer Lagerung kann es oben in den Fläschchen zu geringfügiger Aggregation oder zu leichtem Eintrocknen kommen. In diesem Fall die Fläschchen mehrere Sekunden lang heftig schütteln, bis das Reagenz vollständig resuspendiert ist.

ANWENDUNG DER POSITIVKONTROLLE

Die Reaktivität des Tests kann überprüft werden, indem zu einem Reaktionskreis, in dem die zu testende Probe das Test-Latexreagenz nicht innerhalb von 3 Minuten Schwenken agglutiniert hat, polyvalente Positivkontrolle hinzugegeben wird.

Schritt 1	Mit einem Einweg-Tropfer 1 Tropfen Positivkontrolle zu dem Kreis mit Test-Latexreagenz und Probe hinzufügen.	**1 Tropfen**
Schritt 2	Mit einem Mischstäbchen mischen und dieses sicher entsorgen.	
Schritt 3	Die Karte mit der Hand oder auf einem Schüttler weitere 3 Minuten lang schwenken. Nach dieser Zeit sollte eine deutliche Agglutination des Test-Latexreagenz sichtbar sein.	**3 min**
Schritt 4	Die verwendete Reaktionskarte sicher entsorgen.	

ANWENDUNG DER NEGATIVKONTROLLE

Wenn mindestens eine Probe in einem Testdurchlauf mit dem Testund den Kontroll-Latexreagenzien ein negatives Resultat ergibt (oder nur mit dem Test-Latexreagenz, wenn kein Kontroll-Latexreagenz verwendet wurde), stellt dies eine gültige negative Kontrolle dar und ein weiterer Test ist nicht erforderlich.

Wenn eine zu testende Probe zur Agglutination des Test-Latexreagenz führt, beim Kontroll-Latexreagenz jedoch keine Agglutination erfolgt, muss das Test-Latexreagenz entweder mit der Negativkontrolle oder mit nicht inokuliertem Blutkulturmedium überprüft werden (siehe unten).

Schritt 1	Einen Tropfen Test-Latexreagenz in einen Kreis auf einer Reaktionskarte auftragen.	**1 Tropfen**
Schritt 2	Einen Tropfen Negativkontrolle oder nicht inokuliertes Blutkulturmedium neben das Test- Latexreagenz auftragen.	**1 Tropfen**
Schritt 3	Mit einem Mischstäbchen mischen und dieses sicher entsorgen.	
Schritt 4	Die Karte mit der Hand oder auf einem Schüttler weitere 3 Minuten lang schwenken. Nach dieser Zeit sollte sich beim Test-Latexreagenz keine signifikante Agglutination zeigen.	**3 min**
Schritt 5	Die verwendete Reaktionskarte sicher entsorgen.	

Bei Tests von proben von Liquor und Urin muss die im Kit enthaltene Negativkontrolle verwendet werden.

Bei Tests von Blutkulturen muss eine Probe nicht inokuliertes Blutkulturmedium aus derselben Quelle wie die Probe als Negativkontrolle verwendet werden. Hinweis: Der Test des nicht inokulierten Mediums ist wichtig, da es bei Verwendung von Blutkulturmedien bestimmter Formulierungen zu falsch positiven Ergebnissen kommen kann.

Anmerkungen:

a) Zuvor getestete positive und negative Proben, aliquotiert und bei -15 bis -25°C oder darunter aufbewahrt, können nach Wunsch als positive bzw. negative Kontrollen verwendet werden. Anstelle der zu testenden Probe kann auch die Positivkontrolle verwendet werden.

b) Bei Kolonie-Identifizierungstests (nur Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1) kann die Leistungsfähigkeit des Test- und des Kontroll-Latexreagenz mit frischen, über Nacht gezogenen Kulturen von Bakterien-Referenzstämmen nach der in Testverfahren beschriebenen Methode überprüft werden. Geeignete Referenzstämme sind:

ATCC 13090 – N. meningitidis Gruppe B (positive Reaktion)

ATCC 23503 – E. coli Typ K1 (positive Reaktion)

ATCC 13077 – N. meningitidis Gruppe A (negative Reaktion)

ATCC 13090 und ATCC 23503 sollten beim Test-Latexreagenz zur Agglutination führen, mit dem Kontroll-Latexreagenz jedoch keine signifikante Agglutination ergeben. ATCC

13077 sollte weder beim Test- noch beim Kontrollreagenz Agglutination auslösen.

10. ERGEBNISSE

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Eine **positive** Reaktion zeigt sich durch die Ausbildung eines Agglutinationsmusters innerhalb von 3 Minuten (20 Sekunden bei Kolonietests) nach Mischen des Latexreagenz mit der zu testenden Probe, wobei die Latexpartikel deutlich sichtbar verklumpen (Abbildung 1).

Der Zeitraum, nach dem die Agglutination auftritt und deren Qualität hängen von der Stärke des Antigens ab, wobei das Erscheinungsbild von großen Klumpen, die innerhalb von wenigen Sekunden erscheinen, bis hin zu kleinen Klumpen, die sich nur langsam entwickeln, variieren kann. Bei Kultur-Identifikationstests zeigen sich positive Reaktionen nahezu augenblicklich.

Bei einer **negativen** Reaktion agglutinieren die Latex-Partikel nicht und das milchige Erscheinungsbild bleibt während des gesamten Tests im Wesentlichen unverändert (Abbildung 2). Man beachte jedoch, dass auch bei negativen Reaktionen, abhängig von der Sehschärfe des Anwenders, leichte Anzeichen einer Körnung auftreten können. Bei Kultur-Identifikationstests verursachen manche Stämme eine “fädige” Aggregation der Latexpartikel vor einem milchigen Hintergrund; dies sollte als negative Reaktion interpretiert werden.

HINWEIS: Die für die Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 Testund Kontroll-Latexsuspensionen verwendeten Latexpartikel unterscheiden sich von denen, die für die anderen Reagenzien verwendet werden, und ergeben eine feinere Agglutination.

Abbildung 1

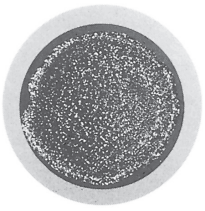
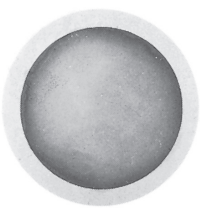


Abbildung 2



INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Positives Ergebnis

Die deutlich erkennbare Agglutination eines einzelnen Test-Latexreagenz, begleitet von negativen Reaktionen mit allen anderen Test-Latexreagenzien und dem Kontroll-Latexreagenz, zeigt das Vorliegen eines bakteriellen Antigens in der getesteten Probe sowie dessen Identität an. In der Regel deutet ein positives Ergebnis mit Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 bei einer neonatalen Probe auf eine Infektion mit E. coli K1 hin, bei älteren Patienten ist eine Infektion mit Meningokokken der Gruppe B wahrscheinlicher.

Negatives Ergebnis

Negative Reaktionen mit allen Test-Latexreagenzien deuten auf die Abwesenheit nachweisbarer Mengen der bakteriellen Antigene in der getesteten Flüssigkeit hin, was jedoch die Möglichkeit einer Infektion mit einem dieser Organismen nicht völlig ausschließt. Wenn die Symptome bestehen bleiben kann es sinnvoll sein, den Test an später genommenen oder alternativen Proben bzw. nach Konzentration einer Urinprobe erneut durchzuführen. Bei einer Kultur weist eine fehlende Agglutination bei Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 darauf hin, dass wahrscheinlich keine Infektion mit N. meningitidis Gruppe B oder E. coli K1 vorliegt.

Nicht interpretierbare Ergebnisse

Eine Agglutination bei mehr als einem Test-Latexreagenz oder bei korrespondierenden Test- und Kontroll-Latexreagenzien zeigt eine unspezifische Reaktion an. In den meisten Fällen können unspezifische Reaktionen mit Körperflüssigkeiten vermieden werden, indem die Probe erhitzt und dann geklärt wird4 (siehe **Vorbereitung klinischer Proben**, Abschnitt **8**). Wenn ein Blutkulturüberstand eine unspezifische Reaktion zeigt, die Probe 5 Minuten in einem siedenden Wasserbad erhitzen, auf Raumtemperatur (18 bis 30°C) abkühlen, durch Zentrifugieren klären und den Test wiederholen.

11. EINSCHRÄNKUNGEN

11.1 Bei Körperflüssigkeiten von Kindern (nur Streptokokken der Gruppe B): Bei Proben mit einem Antigengehalt, der unterhalb der Nachweisgrenze dieses Kits liegt, kann es zu falsch negativen Testergebnissen kommen. Negative Ergebnisse müssen anhand einer Kultur mit selektivem Medium bestätigt werden. Ein positives Ergebnis zeigt das Vorliegen von Streptokokken-Antigen der Gruppe B an; dies bedeutet jedoch nicht unbedingt, dass auch lebende Organismen vorliegen.

11.2 Bei Körperflüssigkeiten von Kindern (nur Streptokokken der Gruppe B): Die Verwendung dieses Kits sollte eine Bakterienkultur nicht ersetzen. Die Leistungsfähigkeit dieses Kits beim Nachweis einer Infektion mit Gruppe-B-Streptokokken anhand von Urinproben von Kindern ist nicht untersucht worden.

11.3 Infektionen mit Gruppe-B-Streptokokken treten vor allem bei Neugeborenen auf. Positive Ergebnisse, die mit Körperflüssigkeiten von Patienten im Alter von mehr als sechs Monaten erhalten werden, müssen mit Vorsicht interpretiert werden. Positive Ergebnisse, die anhand von Blutkulturüberständen erhalten werden, sind u. U. bei Patienten jeden Alters von Bedeutung.

11.4 Ein positives Testergebnis hängt vom Vorliegen einer nachweisbaren Menge von Antigen in der Körperflüssigkeit oder im Blutkulturmedium ab.

11.5 Es wurde über einige Beispiele nicht miteinander verwandter Bakterien berichtet, die dennoch gemeinsame Antigene aufweisen. Daher kann, wie bei jedem immunologischen Testverfahren, die Möglichkeit einer Kreuzreaktion beim Latextest nicht ausgeschlossen werden[1,3,8,9].

12. ERWARTETE ERGEBNISSE

Proben, die nachweisbare Mengen an Gruppe-B-Streptokokken-Antigen, H. influenzae Typ b-Antigen, S. pneumoniae Kapselantigen, N. meningitidis A-, C-, Y-, W135-Antigen oder N. meningitidis B- bzw. E. coli K1-Antigen enthalten, ergeben eine Agglutinationsreaktion mit dem entsprechenden Test-Latexreagenz.

13. LEISTUNGSMERKMALE

13.1 Körperflüssigkeiten und Blutkulturen

In 15 Zentren wurden klinische Studien sowohl mit Proben von Körperflüssigkeiten (frisch und eingefroren gelagert) als auch mit Überständen von Blutkulturen durchgeführt. Bei den Untersuchungen an Blutkulturen wurden sowohl herkömmliche als auch radiometrische Methoden eingesetzt. Die aufbewahrten Proben von Körperflüssigkeiten wurden nicht wie unter Vorbereitung klinischer Proben, Abschnitt 8, beschrieben, einer Hitzebehandlung unterzogen. Umfangreiche Labortests haben gezeigt, dass nach einer Hitzebehandlung entsprechend dieser Methode kein signifikanter Verlust an Antigen auftritt.

Sensitivität

Die Sensitivität der verschiedenen Latexreagenzien im Kit wurde durch Tests an Probenkulturen bestimmt, die für den homologen Organismus positiv waren oder bei denen andere Belege für eine Infektion vorlagen (klinische Diagnose oder weiterer positiver Antigentest).

Die Tabellen 2 bis 6 zeigen die Anzahl von Proben jeden Typs, die mit den einzelnen Latexreagenzien getestet wurden, zusammen mit der jeweils erhaltenen Anzahl positiver Ergebnisse. Die Sensitivität der verschiedenen Latexreagenzien beim Nachweis bakterieller Antigene in Liquor betrug 64.3% (9/14) für Wellcogen Strep B, 96.3% (78/81) für Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45) für Wellcogen S. pneumoniae, 71 % (29/41) für Wellcogen N. meningitidis ACY W135 und 62.5% (10/16) für Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Spezifität

Die Spezifität der verschiedenen Wellcogen Reagenzien wurde an Körperflüssigkeiten (frisch und eingefroren) und Proben von Blutkulturen von Patienten mit bakterieller oder aseptischer Meningitis oder anderen, nicht verwandten Erkrankungen überprüft.

Die aus den infizierten Proben isolierten Organismen waren H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis einschließlich der Gruppen A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, alpha-hämolysierende Streptokokken, betahämolysierende Streptokokken der Gruppe A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii und ein coliformes Bakterium.

Die Spezifität aller fünf Wellcogen Latexreagenzien bei Tests an Liquorproben lag bei mehr als 98 %. Details zur Anzahl der getesteten Proben und zur Spezifität der einzelnen Wellcogen Latexreagenzien bei verschiedenen Probentypen sind in den Tabellen 2 bis 6 aufgeführt.

13.2 Plattenkulturen (nur N. meningitidis B/E. coli K1).

Kulturen von N. meningitidis und E. coli, die auf angereichertem Agarmedium gezogen worden waren, wurden in Krankenhauslaboren und firmenintern getestet. Alle Kulturen von N. meningitidis Gruppe B und E. coli K1 wurden korrekt identifiziert. Es traten keine Kreuzreaktionen mit anderen Gruppen von N. meningitidis oder anderen E. coli K-Antigenen auf (Tabelle 7). Ein Großteil der getesteten E. coli-Kulturen mit anderen K-Antigenen zeigten unspezifische Reaktionen (Tabelle 7).

Tabelle 1

Proben, die mit den einzelnen Wellcogen Latexreagenzien getestet wurden

Probe	Wellcogen				
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/E. coli K1
Liquor	+	+	+	+	+
Urin	+	–	–	–	–
Blutkultur	+	+	+	+	+
Bakterienkolonien	–	–	–	–	+

Schlüssel
+ Daten, die diese Anwendung stützen, sind verfügbar.
– Keine Daten verfügbar.

Tabelle 2

Ergebnisse klinischer Studien zu Wellcogen Strep. B

	Sensitivität[a]		Spezifität[b]	
Probe	Anz. getest.	Anz. positiv	Anz. getest.	Anz. positiv
Liquor	14	9	34	0
Urin	19	16	18	1[c]
Blutkultur	9	9	369	4[d]

[a] Beta-hämolysierende Streptokokken der Gruppe B isoliert/belegt (klinische Diagnose/anderer Antigentest).
[b] Andere Bakterien als Strep. B/kein Wachstum.
[c] P. mirabilis, isoliert.
[d] Staph. epidermidis; beta-hämolysierende Streptokokken der Gruppe A; E. coli + Enterococcus; Staph. epidermidis + Enterococcus, isoliert.

Tabelle 3

Ergebnisse klinischer Studien zu Wellcogen H. influenzae b

	Sensitivität		Spezifität	
Probe	Anz. getest.	Anz. positiv	Anz. getest.	Anz. positiv
Liquor	81	78	366[a]	2[b]
Blutkultur	54	54	1566[c]	5[d]

[a] Eine weitere Liquor-Probe zeigte unspezifische Reaktion.
[b] Eine Probe aseptisch; E. coli isoliert aus anderer Probe.
[c] Zwei weitere Blutkulturüberstände zeigten unspezifische Reaktion.
[d] Eine Probe aseptisch. Weitere Proben zeigten Wachstum von: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; alphahämolysierende Streptokokken.

Tabelle 4

Ergebnisse klinischer Studien zu Wellcogen S. pneumoniae

	Sensitivität		Spezifität	
Probe	Anz. getest.	Anz. positiv	Anz. getest.	Anz. positiv
Liquor	45	39	461[a]	2[b]
Blutkultur	113	109	1512	7[c]

[a] Eine weitere Liquor-Probe zeigte unspezifische Reaktion.
[b] Enterobacter aerogenes; coliformes Bakterium.
[c] Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus; Strep. viridans, isoliert aus 4 Proben.

Tabelle 5

Ergebnisse klinischer Studien zu Wellcogen N. meningitidis ACY W135

	Sensitivität		Spezifität	
Probe	Anz. getest.	Anz. positiv	Anz. getest.	Anz. positiv
Liquor	41[a]	29	423	2[b]
Blutkultur	7	7	1615	2[c]

[a] Umfasst 8 x Gruppe A, 25 x Gruppe C und 1 x Gruppe Y (Rest zu keiner Gruppe gehörig).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus.

Tabelle 6

Ergebnisse klinischer Studien zu Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

	Sensitivität		Spezifität	
Probe	Anz. getest.	Anz. positiv	Anz. getest.	Anz. positiv
Liquor				
N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Blutkultur:				
N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Proben gefroren gelagert. Alle anderen Proben frisch getestet.
[b] Aerobe und anaerobe Kulturen (beta-hämolys. Strep. A) bei demselben Patienten; koagulase-negative Staphylokokken.

Tabelle 7

Identifizierung von Kulturen mit Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Kultura	+	–
N. meningitidis Gruppe A	0	16
N. meningitidis Gruppe B	10	0
N. meningitidis Gruppe C	0	18
N. meningitidis Gruppe 29E	0	8
N. meningitidis Gruppe W135	0	7
N. meningitidis Gruppe X	0	4
N. meningitidis Gruppe Y	0	5
N. meningitidis Gruppe Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – andere Antigene	0	13[b]

[a] Kulturen durch Objektträger-Agglutinationstest identifiziert.
[b] Weitere 10 Kulturen zeigten unspezifische Reaktionen.

14. LITERATUR

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

IFU X7713E, überarbeitet Januar 2025

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Händler vor Ort. www.thermofisher.com

EL

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Wellcogen βακτηριακή Antigen Kit

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η Wellcogen™ βακτηριακή Antigen Kit παρέχει μια σειρά από ταχείες δοκιμές latex για χρήση στην ποιοτική ανίχνευση του αντιγόνου από την ομάδα B Streptococcus, Haemophilus influenzae τύπου b, Streptococcus pneumoniae (του πνευμονιόκοκκου), Neisseria meningitidis (μηνιγγιτιδόκοκκος) ομάδες A, B, C, Y ή W135 και Escherichia coli K1 παρούσα στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (CSF) και καλλιέργειας αίματος , ως συνέπεια της μόλυνσης. Το κιτ μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τη δοκιμή τα ούρα ή τα αντιγόνου από την ομάδα B Streptococcus και καλλιέργειες πλάκας για την ομάδα N. meningitidis B ή Escherichia coli K1. (Βλέπε Πίνακα 1 για τις ενδείξεις που υποστηρίζονται από κλινικά δεδομένα).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Οι δοκιμές πραγματοποιούνται απευθείας σε κλινικά δείγματα που προορίζονται για τους σκοπούς του ελέγχου και θα πρέπει να αυξήσει και όχι να αντικαταστήσουν, διαδικασίες καλλιέργειας. Αποτελέσματα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλα δεδομένα? Π.χ. συμπτώματα, τα αποτελέσματα άλλων δοκιμών, κλινικές εντυπώσεις κλπ.

2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μηνιγγίτιδα έχει μια ευρεία ποικιλία των πιθανών αιτιών, είτε λοιμώδους ή μη λοιμώδους. Αν βακτηριακή μηνιγγίτιδα δεν αντιμετωπιστεί έγκαιρα και αποτελεσματικά, η νόσος είναι πιθανό να αποβεί μοιραία. Ο έγκαιρος εντοπισμός του μολυσματικού παράγοντα μπορεί να έχει ιδιαίτερη αξία στην παροχή στον ασθενή με κατάλληλο και επαρκή χημειοθεραπεία. Πολλά βακτηριακά είδη έχουν εμπλακεί σε μηνιγγίτιδα. Streptococcus της ομάδας B και E. coli K1 είναι δύο από τις πιο κοινές αιτίες της νεογνικής σηψαιμίας, ενώ στις μεγαλύτερες ηλικιακές ομάδες η συχνότερη απομόνωσης είναι H. influenzae τύπου meningitidis των ομάδων A, B, C, Y και W135 b, S. pneumoniae και N. . Αυτοί οι οργανισμοί φέρουν συγκεκριμένα αντιγόνα επιφανείας πολυσακχαρίτη, μία ποσότητα του οποίου διαχέεται εντός μέσων καλλιέργειας ή υγρών σώματος, όπως CSF ή στον ορό, και εκκρίνεται στα ούρα. Τα αντιγόνα μπορούν να ανιχνευθούν από ευαίσθητες ανοσολογικές μεθόδους, όπως counterimmuno-ηλεκτροφόρηση και λατέξ συγκόλλησης[2,5,6,10].

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Τα αντιδραστήρια Wellcogen αποτελούνται από σωματίδια λάτεξ πολυστυρενίου τα οποία έχουν επικαλυφθεί με αντισώματα προς τα βακτηριακά αντιγόνα. Αυτά τα σωματίδια λάτεξ συγκολλούν στην παρουσία επαρκούς ομόλογο αντιγόνο. Τα Streptococcus και H. influenzae αντιδραστήρια είναι ομάδα B και τύπου B αντίστοιχα ειδικά, το αντιδραστήριο S. pneumoniae είναι ευαισθητοποιημένα με αντισώματα που καθαρίζονται από μία omnivalent ορό και το N. meningitidis πολυσθενούς αντιδραστήριο αντιδρά με τις ομάδες A, C, Y και W135 αντιγόνα. Ομάδα μηνιγγιτιδόκοκκου B αντιγόνο είναι πιο δύσκολο να detect[6] καθώς επίσης και όντας δομικά και ανοσολογικά σχετικές με E. coli K1 antigen[7]? Δύο αυτά αντιδρούν με το αντιδραστήριο N. meningitidis ομάδος B.

4. ΟΡΙΣΜΟΙ ΣΥΜΒΟΛΟ

REF	Αριθμός καταλόγου
IVD	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης (IFU)
	Όρια θερμοκρασίας (Θερμοκρασία αποθήκευσης)
Σ N	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <N> εξετάσεις
LOT	Κωδικός παρτίδας (Αριθμός παρτίδας)
	Χρήση έως (Ημερομηνία λήξης)
	Εισαγωγέας
EC REP	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα
UK CA	Αξιολόγηση συμμόρφωσης για το HB
CE	Ευρωπαϊκή αξιολόγηση συμμόρφωσης
	Παρασκευαστής

5. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΟΥ ΚΙΤ, ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Η Wellcogen βακτηριακή Antigen Kit περιλαμβάνει επαρκή αντιδραστήρια για την εκτέλεση 30 δοκιμές.

Βλέπε επίσης προφυλάξεις, τμήμα 6.

Όλα τα εξαρτήματα θα πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2 έως 8 ° C σύμφωνα με την οποία προϋπόθεση ότι θα διατηρήσουν τη δραστηριότητά τους μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ.

Πριν από τη χρήση, φέρει όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου (18 - 30 ° C) και αναμειγνύουμε. Επιστρέψτε τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια στο ψυγείο μετά τη χρήση.

Οδηγίες Χρήσης

Μίας Κάρτες αντίδρασης (2 συσκευασίες)
Μίας Sticks ανάμιξη (5 δέσμες)
Μίας Σταγονόμετρα (1 δοχείο)
Μαύρο καουτσούκ θηλή (1)

TEST LATEX

Λάτεξ Test

Strep B (ροζ καπάκι)

H. influenzae τύπου b (ανοιχτό μπλε καπάκι)
S. pneumoniae (κίτρινο καπάκι)
N. meningitidis ACY W135 (γκρίζο καπάκι)
N. meningitidis B / E. coli K1 (καφέ καπάκι)

Πέντε φιάλες σταγονόμετρο, ένα ειδικό για κάθε μία από τις παραπάνω ομάδες, που περιέχει 0,5% εναιωρήματα σωματιδίων latex σε ρυθμιστικό που περιέχει 0.05% Bronidox ® ή / και 0,1% αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Τα σωματίδια λατέξ επικαλυμμένα με το κατάλληλο αντίσωμα κουνελιού, όπως σημασμένο, εκτός από την ομάδα N. meningitidis B / E. αντιδραστήριο coli K1, η οποία είναι επικαλυμμένη με μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού.

CONTROL LATEX **Λάτεξ ελέγχου**

5 φιάλες σταγονόμετρο (σκούρο μπλε καπάκι) που περιέχει 0,5% αναστολές των σωματιδίων latex σε ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει 0,05% Bronidox ® ή / και 0,1% αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Τα σωματίδια λατέξ επικαλυμμένα με ένα κατάλληλο παρασκεύασμα σφαιρίνης κουνελιού ή στην περίπτωση της ομάδας N. meningitidis B / E. coli K1 λατέξ, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που εγείρεται κατά του Bordetella bronchiseptica.

Τα αιωρήματα λατέξ προβλέπονται έτοιμο για χρήση και πρέπει να φυλάσσονται στους 2 έως 8 ° C σε μία όρθια θέση, μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit. Μετά από παρατεταμένη αποθήκευση κάποια συσσωμάτωση ή ξήρανση του λάτεξ μπορεί να έχουν συμβεί γύρω από την κορυφή της φιάλης. Υπό τις συνθήκες αυτές η φιάλη του λάτεξ θα πρέπει να ανακινείται ζωηρά για λίγα δευτερόλεπτα μέχρι επαναιώρηση είναι πλήρης. ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ.

CONTROL +

Πολυδύναμα Θετικός μάρτυρας

Δύο φιάλες (μπλε καπάκι) που περιέχει βακτηριακά εκχυλίσματα ξηραίνονται με κατάψυξη που περιέχουν αντιγόνα από αντιπροσωπευτικά στελέχη κάθε βακτηριδιακό είδος για το οποίο παρέχεται λατέξ. Περιέχει 0,01% bronopol πριν από την ανασύσταση και 0,004%, μετά την ανασύσταση.

Ανασύσταση χρησιμοποιώντας 3,6 ml αποστειρωμένου απεσταγμένου νερού. Μετά την προσθήκη του νερού επιτρέπουν η φιάλη να σταθεί για λίγα λεπτά και στη συνέχεια να αναμειχθεί στροβιλισμού. Κατάστημα ανασυσταθεί αντιγόνο στους 2 έως 8 ° C για έως 6 μήνες.

CONTROL +

Αρνητικός μάρτυρας

Ένα μπουκάλι σταγονόμετρο (λευκό πώμα) που περιέχει γλυκίνη αλατούχο διάλυμα, pH 8,2, με 0,05% Bronidox ® ως συντηρητικό.

6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

IVD

Τα αντιδραστήρια για in vitro διαγνωστική χρήση μόνο.

Για επαγγελματική χρήση μόνο.

Παρακαλούμε ανατρέξτε στο Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας (SDS) και η επισήμανση του προϊόντος για πληροφορίες σχετικά με δυνητικά επικίνδυνα συστατικά.

ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΩΝ

6.1 ΤΔοκιμάστε και ο Λάτεξ ελέγχου για την ομάδα B Streptococcus, H. influenzae τύπου b, S. pneumoniae και N. meningitidis ACY W135 περιέχουν 0,1% αζίδιο του νατρίου. Αζίδια μπορεί να αντιδράσει με το χαλκό και το μόλυβδο που χρησιμοποιείται σε ορισμένα συστήματα υδραυλικών εγκαταστάσεων και να σχηματίσει εκρηκτικά άλατα. Οι ποσότητες που χρησιμοποιούνται σε αυτό το κιτ είναι μικρά?, Ωστόσο, κατά την απόρριψη των υλικών που περιέχουν αζίδιο θα πρέπει να ξεπλυθούν μακριά με μεγάλες ποσότητες νερού.

6.2 Σύμφωνα με τις αρχές της Ορθής Εργαστηριακής Πρακτικής συνιστάται έντονα ότι τα υγρά του σώματος θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικά μολυσματικά και να χειρίζονται με όλες τις απαραίτητες προφυλάξεις.

6.3 Κατά το χειρισμό ραδιομετρική μέσο καλλιέργειας αίματος, θα πρέπει να ακολουθούνται οι βασικοί κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία. αυτές περιλαμβάνουν:

a) Ραδιενεργό υλικό πρέπει να φυλάσσεται σε μια καθορισμένη περιοχή σε ένα εγκεκριμένο δοχείο.

b) Χειρισμός της ραδιενέργειας θα πρέπει να λάβει χώρα σε μια καθορισμένη περιοχή.

c) Αριθ. σιφωνίων δια του στόματος ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να πραγματοποιείται.

d) Μην τρώτε, πίνετε ή το κάπνισμα θα πρέπει να εκτελούνται στην οριοθετημένη περιοχή.

e) Τα χέρια πρέπει να πλένονται καλά μετά τη χρήση του ραδιενεργού υλικού.

f) Θα πρέπει να ζητείται η γνώμη της τοπικής Υπεύθυνος ακτινοπροστασίας σχετικά με τις απαιτήσεις διάθεσης.

6.4 Μη αναλώσιμη συσκευή θα πρέπει να αποστειρώνονται με οποιαδήποτε κατάλληλη διαδικασία μετά τη χρήση, αν και η προτιμώμενη μέθοδος είναι να αυτόκαυστο για 15 λεπτά στους 121 ° C. Τα αναλώσιμα υλικά πρέπει να αποστειρώνονται σε αυτόκαυστο ή να αποτεφρώνονται. Χυμένες ποσότητες των δυνητικά μολυσματικών υλικών πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί υγείας και τις μολυσμένες περιοχές καθαρίζεται με ένα πρότυπο βακτηριακό απολυμαντικό ή 70% αλκοόλ. ΜΗΝ χρησιμοποιήσετε το υποχλωριώδες νάτριο. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για τον καθαρισμό διαρροές, συμπεριλαμβανομένων και των γαντιών, θα πρέπει να απορρίπτονται ως βιολογικά επικίνδυνα απόβλητα.

6.5 Μη χρησιμοποιείτε πιπέτα με το στόμα. Να φοράτε γάντια μιας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα και πραγματοποιείτε τη δοκιμασία. Πλύνετε καλά τα χέρια σας όταν τελειώσετε.

6.6 Όταν χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις αρχές της Ορθής Εργαστηριακής Πρακτικής, ορθά πρότυπα της επαγγελματικής υγιεινής και τις οδηγίες που αναφέρονται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης, τα αντιδραστήρια που παρέχονται δεν θεωρείται ότι παρουσιάζει κίνδυνο για την υγεία.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

6.7 Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια πέραν της αναγραφόμενης ημερομηνίας λήξης.

6.8 Αντιδραστήρια λάτεξ θα πρέπει να φθάσει σε θερμοκρασία δωματίου (18-30 ° C) πριν από τη χρήση. Αντιδραστήρια λάτεξ που δείχνουν σημάδια συσσωμάτωσης ή «διόγκωση» πριν από τη χρήση μπορεί να έχει καταψυχθεί και δεν πρέπει να χρησιμοποιείται.

6.9 Είναι σημαντικό όταν χρησιμοποιούν φιάλες σταγονόμετρο που συγκρατούνται κατακόρυφα και ότι οι μορφές σταγόνα στο άκρο του ακροφυσίου. Εάν το ακροφύσιο βραχεί μια λανθασμένη όγκο θα αποτελέσει γύρω από το τέλος και όχι στην άκρη? Εάν αυτό συμβεί στεγνώσει το ακροφύσιο πριν από την πρόοδο.

6.10 Τα αντιδραστήρια που παρέχονται με κάθε κιτ συμφωνημένα στην απόδοση και δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με αντιδραστήρια από ένα κιτ που έχει ένα διαφορετικό αριθμό παρτίδας.

6.11 Μην αγγίζετε τις περιοχές αντίδρασης στις κάρτες.

6.12 Μηχανικές περιστροφείς μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αυτή τη δοκιμασία. Τα ακόλουθα χαρακτηριστικά έχουν βρεθεί να είναι ικανοποιητικές:

i) Orbital στροφείς (επίσης γνωστή ως διαστάσεων rotators) που λειτουργούν σε 25 rpm με γωνία περίπου εκ περιτροπής από 9 έως 10,5 βαθμούς ή λειτουργεί σε 18 rpm με γωνία περιτροπής από 16 έως 17,5 βαθμούς.

6.13 Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.

7. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

7.1 Δείγματα υγρών του σώματος (π.χ. ΕΝΥ, ούρα) θα πρέπει να εξετάζονται αμέσως μετά τη συλλογή όσο το δυνατόν. Εάν το υγρό δεν μπορεί να ελεγχθεί αμέσως μπορεί να αποθηκεύεται επί μία νύκτα σε θερμοκρασία 2 έως 8 ° C, ή για μεγαλύτερες περιόδους καταψύχονται στους -15 έως -25 ° C. Αν οι βακτηριολογικές αναλύσεις που απαιτούνται στο δείγμα, αυτά θα πρέπει να συσταθεί πριν από την εκτέλεση της δοκιμής latex, για να αποφευχθεί η μόλυνση του δείγματος.

7.2 καλλιέργειες αίματος μπορεί να γίνει δειγματοληψία και δοκιμάστηκαν μετά από 18 έως 24 ώρες επώασης στους 37 ° C και / ή συντομότερο παρατηρείται βακτηριακή ανάπτυξη.

7.3 πολιτισμών πλάκα (N. meningitidis B / E. coli K1 μόνο). Απομονωμένες αποικίες αναπτύσσονται σε εμπλουτισμένο μέσο άγαρ (π.χ. αίμα, άγαρ σοκολάτας) μπορεί να ελεγχθεί μετά από ολονύκτια επώαση στους 37 ° C. Μια χρώση Gram πρέπει να γίνει για να βοηθήσει με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της δοκιμής λάτεξ.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

βλέπω **Περιεχόμενα συσκευασίας**, τμήμα **5**.

ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Βραστό νερό

Φίλτρα εργαστηριακή φυγόκεντρος ή μεμβράνη (0.45 μm)

Rotator (προαιρετικό - ανατρέξτε στο προφυλάξεις, τμήμα **6**)

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

8.1 Δείγματα υγρών του σώματος πρέπει να θερμαίνεται πριν από τη δοκιμή με τη διαδικασία Wellcogen για την ελαχιστοποίηση μη ειδικές αντιδράσεις[4,6]. Οι ακόλουθες διαδικασίες συνιστώνται:

a) θερμαίνεται για 5 λεπτά σε λουτρό ζέοντος ύδατος. Το δείγμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 30 ° C) και να διευκρινίσει με φυγοκέντρηση ή διήθηση μέσω μεμβράνης (0,45 μm) πριν από τη δοκιμασία. Για μέγιστη ευαισθησία δείγματα ούρων μπορεί να συμπυκνωθεί μέχρι 25 φορές σε ένα Minicon ® B-15 συγκεντρωτή. Αποσαφήνιση ως ανωτέρω πριν από τη δοκιμή.

8.2 καλλιέργειες αίματος. Φυγοκεντρήστε ένα 1 έως 2 ml του δείγματος για την κατακρήμνιση τα ερυθρά αιμοσφαίρια, για παράδειγμα σε 1000 g για 5 έως 10 λεπτά. Πραγματοποιήστε τη δοκιμή latex στο υπερκείμενο.

Εάν ένας μη-ειδική αντίδραση λαμβάνει χώρα με ένα υπερκείμενο καλλιέργειας αίματος (βλέπω **Ερμηνεία των αποτελεσμάτων**, τμήμα **10**), το δείγμα θερμαίνεται σε λουτρό ζέοντος ύδατος για 5 λεπτά, να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου (18-30 ° C), να διευκρινίσει με φυγοκέντρηση και επαναλάβετε τη δοκιμή.

8.3 πολιτισμών πλάκα (Μόνο N. meningitidis B / E. coli K1). Δοκιμή απευθείας από την πλάκα καλλιέργειας.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Συνιστάται ότι το κεφάλαιο για προφυλάξεις, τμήμα 6, διαβάστε προσεκτικά πριν από την εκτέλεση της δοκιμής.

Δείγματα υγρών του σώματος και υπερκείμενα καλλιέργειας αίματος:

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Αν υπάρχει μόνο ένας μικρός όγκος δείγματος δοκιμής είναι διαθέσιμα, θα πρέπει να χρησιμοποιείται με τα Λάτεξ Test πρώτα και αν ληφθεί ένα θετικό αποτέλεσμα, το δείγμα πρέπει να ελέγχεται με την κατάλληλη Latex Ελέγχου. Αν επαρκές δείγμα είναι διαθέσιμο, θα πρέπει να ελέγχονται τόσο κατά τη δοκιμή και τον έλεγχο Latexes ταυτόχρονα.

βήμα 1	Επεξεργάζεται το δείγμα όπως περιγράφεται στο **Προετοιμασία των κλινικών δειγμάτων.**
βήμα 2	Ανακινήστε τα αντιδραστήρια λάτεξ.
βήμα 3	Τοποθετήστε 1 σταγόνα από κάθε **Test Latex** ή **Έλεγχος Latex** σε ένα ξεχωριστό κύκλο στην κάρτα αντίδρασης. Εξασφάλιση ότι οι φιάλες σταγονόμετρο διατηρείται κατακόρυφα για να απαλλάξει ακριβής πτώση. (Βλέπε Προφυλάξεις, τμήμα 6). **1 σταγόνα**
βήμα 4	Χρησιμοποιώντας ένα Μίας ταγονόμετρο, προσθέστε 1 σταγόνα (περίπου 40 μl) από **Δείγμα δοκιμής** δίπλα σε κάθε πτώση του λάτεξ. **1 σταγόνα**
βήμα 5	**μείγμα** τα περιεχόμενα κάθε κύκλο με ένα Mixing Stick και εξαπλωθεί για να καλύψει όλη την περιοχή του κύκλου. Χρησιμοποιήστε ένα ξεχωριστό ραβδί για κάθε κύκλο καιαπορρίψτε το για ασφαλή διάθεση μετά τη χρήση.
βήμα 6	**βράχος** η κάρτα αργά και **παρατηρώ** για συγκόλληση για 3 λεπτά, κρατώντας την κάρτα σε κανονική ανάγνωση απόσταση (25 έως 35 cm) από τα μάτια. Μην χρησιμοποιείτε ένα μεγεθυντικό φακό. Μηχανικής περιστροφής (3 λεπτά) μπορεί να να χρησιμοποιηθεί (βλ. **προφυλάξεις**, τμήμα **6**). τα μοτίβα που λαμβάνονται είναι σαφής και μπορεί να αναγνωριστεί στο πλαίσιο όλων κανονικές συνθήκες φωτισμού. **3 λεπτά**
βήμα 7	Απορρίψτε την κάρτα που χρησιμοποιείται Αντίδραση για την ασφαλή διάθεση.

καλλιέργειες πλάκα:
(Wellcogen N. meningitidis B / E. coli K1 μόνο):

βήμα 1	Ανακινήστε τα αντιδραστήρια λάτεξ.
βήμα 2	Για κάθε καλλιέργεια που πρόκειται να δοκιμαστεί τόπο 1 σταγόνα **Test λάτεξ** σε έναν κύκλο σε μια κάρτα αντίδραση και 1 σταγόνα **Έλεγχος Latex** σε έναν ξεχωριστό κύκλο. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: είναι απαραίτητο να χρησιμοποιήσετε το **Έλεγχος Latex** ύποπτος για καλλιέργειες E. coli. **1 σταγόνα**
βήμα 3	Ρίξτε μια Ανάμιξη Stick και να πάρει λίγα από τον πολιτισμό αγγίζοντάς το με το επίπεδο άκρο της ράβδου. Ως οδηγός, ένα ποσό της αύξησης περίπου ισοδύναμη με 1 μεγάλο αποικία θα πρέπει να συλλέγονται. **δείγμα από ανάπτυξη**
βήμα 4	**γαλακτώνω** το δείγμα του πολιτισμού στην πτώση των **δοκιμή κόμμι** από την τριβή με το επίπεδο άκρο της ράβδου. τρίψιμο καλά, αλλά όχι τόσο ζωηρά ώστε να βλάψει το επιφάνεια της κάρτας. Διαδώστε το λάτεξ ώστε να καλύπτει όσο του κύκλου όσο το δυνατόν. Απορρίψτε το Stick για ανάμιξη ασφαλή διάθεση.
βήμα 5	Χρησιμοποιώντας ένα ξεχωριστό ραβδί, **γαλακτώνω** ένα παρόμοιο δείγμα πολιτισμού στην **Latex Ελέγχου**.
βήμα 6	**βράχος** η κάρτα αργά και **παρατηρώ** για συγκόλληση για 20 δευτερόλεπτα που κατέχουν την κάρτα σε κανονική ανάγνωση απόσταση (25 έως 35 cm) από τα μάτια. Μην χρησιμοποιείτε ένα μεγεθυντικό φακό. Τα πρότυπα που λαμβάνονται είναι σαφής και μπορεί εύκολα να αναγνωριστεί σε όλες τις κανονικές lighting συνθήκες. **20 δευτ.**
βήμα 7	Απορρίψτε την κάρτα που χρησιμοποιείται Αντίδραση για την ασφαλή διάθεση.

9. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Οι ακόλουθες διαδικασίες θα πρέπει να διεξάγεται αρχικά με κάθε αποστολή κιτ δοκιμών και με κάθε κίνηση των δειγμάτων δοκιμής. Στην πράξη, μια κίνηση μπορεί να οριστεί ως μια περίοδος δοκιμής μέχρι 24 ώρες. Οποιαδήποτε απόκλιση από τα αναμενόμενα αποτελέσματα δείχνουν μπορεί να υπάρχει κάποιο πρόβλημα με τα αντιδραστήρια, τα οποία πρέπει να επιλυθούν πριν από την περαιτέρω χρήση με κλινικά δείγματα.

ΟΠΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Τα αιωρήματα λατέξ θα πρέπει πάντα να επιθεωρείται για συσσωμάτωση καθώς αυτά πέφτουν πάνω στην κάρτα δοκιμής και αν υπάρχουν ενδείξεις συσσωμάτωσης πριν από την προσθήκη του δείγματος δοκιμής, δεν πρέπει να χρησιμοποιείται το εναιώρημα. Μετά από παρατεταμένη αποθήκευση κάποια συσσωμάτωση ή ξήρανσης μπορεί να έχουν συμβεί γύρω από την κορυφή της φιάλης. Εάν αυτό παρατηρηθεί, η φιάλη πρέπει να ανακινείται ζωηρά για μερικά δευτερόλεπτα μέχρι να ολοκληρωθεί η επαναιώρηση.

ΘΕΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

Η αντιδραστικότητα της δοκιμής μπορεί να επιβεβαιωθεί με την προσθήκη Πολυδύναμα Θετικού Μάρτυρα σε έναν κύκλο της αντίδρασης στην οποία το δείγμα δοκιμής δεν έχει συγκολλημένα την Latex Test μετά την περιστροφή 3 λεπτά.

βήμα 1	Χρησιμοποιήστε ένα Μίας πετάχτηκα 1 σταγόνα να προσθέσετε Θετική Ελέγχου του κύκλου που περιέχει Latex Test και το δείγμα. **1 σταγόνα**
βήμα 2	Ανακατέψτε χρησιμοποιώντας μια Ανάμιξη Stick και απορρίψτε το για την ασφαλή διάθεση.
βήμα 3	Ροκ την κάρτα με το χέρι ή με ένα περιστροφέα για περαιτέρω 3 λεπτά. Μετά από αυτή τη φορά, οριστική συγκόλληση θα πρέπει να είναι ορατά στο Latex Test. **3 λεπτά**
βήμα 4	Απορρίψτε την κάρτα που χρησιμοποιείται Αντίδραση για την ασφαλή διάθεση.

ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

Εάν τουλάχιστον ένα δείγμα μέσα από ένα τρέξιμο δίνει ένα αρνητικό αποτέλεσμα με τη δοκιμή και Λάτεξ ελέγχου (ή Test λάτεξ μόνον εφόσον δεν Ελέγχου Latex έχει χρησιμοποιηθεί), αυτό αποτελεί ένα έγκυρο αρνητικό έλεγχο για τα αντιδραστήρια και δεν απαιτούνται περαιτέρω δοκιμές.

Εάν ένα δείγμα δοκιμής δίνει συγκόλληση με το Latex Test και καμία συγκόλληση με το λάτεξ ελέγχου, τότε η Latex Test θα πρέπει να ελέγχεται είτε με το αρνητικού ελέγχου ή μη εμβολιασμένο μέσο καλλιέργειας αίματος, όπως απαιτείται (βλέπε παρακάτω).

βήμα 1	Τοποθετήστε μία σταγόνα από Latex Test σε έναν κύκλο σε ένα Κάρτα αντίδραση. **1 σταγόνα**
βήμα 2	Διανείμετε μία σταγόνα Αρνητικός μάρτυρας ή μη εμβολιασμένο μέσο αλλιέργειας αίματος δίπλα στο Τεστ Latex. **1 σταγόνα**
βήμα 3	Ανακατέψτε χρησιμοποιώντας μια Ανάμιξη Stick και απορρίψτε το για την ασφαλή διάθεση.
βήμα 4	Ροκ την κάρτα με το χέρι ή με ένα περιστροφέα για περαιτέρω 3 λεπτά. Μετά το χρόνο αυτό, δεν πρέπει να υπάρχει σημαντική συγκόλληση στο Latex Test. **3 λεπτά**
βήμα 5	Απορρίψτε την κάρτα που χρησιμοποιείται Αντίδραση για την ασφαλή διάθεση.

Για δοκιμές με δείγματα υγρών του σώματος, θα πρέπει να χρησιμοποιείται ο αρνητικός μάρτυρας που παρέχονται με το κιτ.

Για δοκιμές με καλλιέργειες αίματος από ένα δείγμα μη εμβολιασμένο μέσο καλλιέργειας αίματος από την ίδια πηγή όπως το δείγμα θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ως αρνητικός έλεγχος. Σημείωση: μη εμβολιασμένο έλεγχο των μέσων ενημέρωσης είναι σημαντική, όπως ψευδώς θετικά μπορεί να συμβεί με ορισμένα σκευάσματα των μέσων καλλιέργειας αίματος.

Σημειώσεις:

a) Προηγουμένως δοκιμάστηκαν θετικά και αρνητικά δείγματα, κλασματοποιήθηκε και αποθηκεύθηκε στους -15 έως -25 ° C ή παρακάτω, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι, αντιστοίχως, εάν είναι επιθυμητό. Ο θετικός μάρτυρας μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί στη θέση του δείγματος δοκιμής.

b) Για δοκιμές ταυτοποίησης αποικίας (Wellcogen N. meningitidis B / E. coli K1 μόνο), η απόδοση της δοκιμής και ελέγχου λάτεξ αντιδραστήρια μπορούν να επιβεβαιώνεται χρησιμοποιώντας φρέσκα, ολονύκτιες καλλιέργειες των στελεχών αναφοράς των βακτηριδίων, ακολουθώντας τη μέθοδο που περιγράφονται σε διαδικασία δοκιμής. Κατάλληλα στελέχη αναφοράς είναι:

ATCC 13090 – N. meningitidis ομάδος B (θετική αντιδραστικότητα)

ATCC 23503 – E. coli τύπου K1 (θετική αντιδραστικότητα)

ATCC 13077 – N. meningitidis της ομάδας A (αρνητική

αντιδραστικότητα)

ATCC 13090 and ATCC 23503 should δώσει συγκόλληση με το Latex Test και χωρίς σημαντική συγκόλληση στο λατέξ Ελέγχου, ATCC 13077 θα πρέπει να δώσει καμία σημαντική συγκόλληση είτε με τη δοκιμή ή τον έλεγχο Latex.

10. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

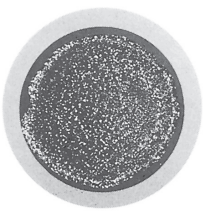
Μια θετική αντίδραση υποδεικνύεται από την ανάπτυξη ενός προτύπου συγκολλημένα μέσα σε 3 λεπτά (20 δευτερόλεπτα για τη δοκιμή αποικιών) της ανάμιξης του λάτεξ με το δείγμα δοκιμής, δείχνοντας σαφώς ορατή συσσωμάτωση των σωματιδίων λάτεξ (Σχήμα 1).

Η ταχύτητα της εμφάνιση και την ποιότητα της συγκόλλησης εξαρτάται από την αντοχή του αντιγόνου, που κυμαίνονται από μεγάλα συσσωματώματα τα οποία εμφανίζονται μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα από την ανάμειξη, σε μικρές συστάδες που αναπτύσσουν μάλλον αργά. Σε αναγνώριση του πολιτισμού, οι περισσότερες θετικές αντιδράσεις θα είναι σχεδόν στιγμιαία.

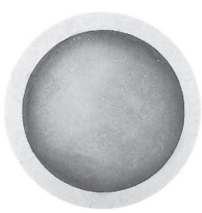
Σε μια αρνητική αντίδραση το λατέξ δεν συγκολλούν και το γαλακτώδη εμφάνιση παραμένει ουσιαστικά αμετάβλητη σε όλη τη δοκιμασία (Σχήμα 2). Σημειώστε, ωστόσο, ότι αμυδρά ίχνη διακριτότητας μπορεί να ανιχνευθεί σε αρνητικά πρότυπα, ανάλογα με την οπτική οξύτητα του χειριστή. Στην ταυτοποίηση από καλλιέργεια, ορισμένα στελέχη μπορεί να προκαλέσουν «ινώδη" συνάθροιση του λάτεξ με ένα γαλακτώδες φόντο? Αυτό πρέπει να ερμηνευθεί ως αρνητική αντίδραση.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα σωματίδια λάτεξ που χρησιμοποιείται στην Wellcogen N. meningitidis B / E. coli K1 δοκιμής και ελέγχου λάτεξ εναιωρήματα δεν είναι τα ίδια με εκείνα που χρησιμοποιούνται για τα άλλα αντιδραστήρια, και να δώσει μια συγκόλληση λεπτότερα.

Σχήμα 1



Σχήμα 2



ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

θετικό αποτέλεσμα

Σαφή συγκόλληση ενός ενιαίου Latex Test συνοδεύεται από αρνητικές αντιδράσεις με όλα τα άλλα αντιδραστήρια δοκιμής λάτεξ και λάτεξ ελέγχου υποδεικνύει την παρουσία και την ταυτότητα ενός βακτηριακού αντιγόνου στο δείγμα δοκιμής. Κατά γενικό κανόνα, ένα θετικό αποτέλεσμα με Wellcogen N. meningitidis B / E. coli K1 κατά νεογνών δείγμα υποδεικνύει λοίμωξη E. coli K1? με ηλικιωμένους ασθενείς, μηνιγγιτιδόκοκκου ομάδας B είναι πιο πιθανό.

αρνητικό αποτέλεσμα

Αρνητικές αντιδράσεις με όλα τα αντιδραστήρια δοκιμής λάτεξ υποδεικνύει την απουσία ενός ανιχνεύσιμου επιπέδου των βακτηριακών αντιγόνων στο ρευστό δοκιμής - δεν εξαλείφει την πιθανότητα μιας μόλυνσης που προκαλείται από αυτούς τους οργανισμούς, και εάν τα συμπτώματα επιμένουν μπορεί να είναι επιθυμητό για την εκτέλεση της δοκιμής για τις επακόλουθες ή εναλλακτικά δείγματα, ή μετά από συμπύκνωση του δείγματος ούρων.

Με μια κουλτούρα, η έλλειψη της συγκόλλησης σε Wellcogen N. meningitidis B / E. coli K1 αντιδραστήρια δείχνει ότι είναι απίθανο να είναι N. meningitidis της ομάδας B ή E. coli K1.

Μη ερμηνεύσιμη Αποτελέσματα

Συγκόλληση περισσοτέρων του ενός Latex Test αντιδραστηρίου ή αντίστοιχα δοκιμής και ελέγχου Λατέξ υποδεικνύει μία μη-ειδική αντίδραση. Στις περισσότερες περιπτώσεις, μη ειδικές αντιδράσεις με τα υγρά του σώματος μπορούν να εξαλειφθούν με τη θέρμανση και την αποσαφήνιση του δείγματος4 (βλέπω **Προετοιμασία των κλινικών δειγμάτων**, τμήμα **8**). Εάν ένας μη-ειδική αντίδραση λαμβάνει χώρα με ένα υπερκείμενο καλλιέργειας του αίματος, το δείγμα θερμαίνεται σε λουτρό ζέοντος νερού επί 5 λεπτά, ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 30 ° C), θα διευκρινίσει με φυγοκέντρηση και επαναλάβετε τη δοκιμή.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

11.1 Για βρέφη υγρά του σώματος (Ομάδα B strep μόνο) - Ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα των δοκιμών μπορεί να συμβεί με δείγματα που περιέχουν τα επίπεδα του αντιγόνου κάτω από τα όρια ανίχνευσης της συσκευής αυτής. Αρνητικά αποτελέσματα θα πρέπει να παρακολουθούνται με επιλεκτική καλλιέργειας ζωμού. Ένα θετικό αποτέλεσμα δείχνει την παρουσία της Ομάδας B στρεπτοκοκκική αντιγόνο? Το αποτέλεσμα δεν υποδεικνύει απαραίτητα την παρουσία βιώσιμων μικροοργανισμών.

11.2 Για βρέφη υγρά του σώματος (Ομάδα B strep μόνο) – Η χρήση αυτής της συσκευής δεν πρέπει να υποκαθιστά την μικροβιολογική καλλιέργεια. Απόδοση αυτής της συσκευής για την πρόβλεψη της στρεπτοκοκκικής νόσου Group B από τις δοκιμασίες στα ούρα του νεογνού δεν έχει τεκμηριωθεί.

11.3 Μολύνσεις από στρεπτόκοκκο ομάδας B συμβαίνουν κυρίως στα νεογνά. Θετικά αποτελέσματα που λαμβάνονται με δείγματα σωματικού υγρού από ασθενείς ηλικίας άνω των έξι μηνών θα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή. Θετικά αποτελέσματα που ελήφθησαν με υπερκείμενα καλλιέργειας αίματος από ασθενείς οποιασδήποτε ηλικίας μπορεί να είναι σημαντική.

11.4 Ένα θετικό αποτέλεσμα στη δοκιμή εξαρτάται από την παρουσία ενός ανιχνεύσιμου επιπέδου του αντιγόνου στο σωματικό υγρό ή μέσο καλλιέργειας αίματος.

11.5 Λίγες παραδείγματα έχουν αναφερθεί από άσχετα βακτήρια τα οποία έχουν κοινά αντιγόνα και, όπως συμβαίνει με κάθε ανοσολογικό σύστημα δοκιμής, τη δυνατότητα της πολλαπλής αντιδράσεων που συμβαίνουν στη δοκιμή λατέξ δεν μπορεί να αποκλειστεί1,3,8,9.

12. ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δείγματα που περιέχουν ένα ανιχνεύσιμο επίπεδο στρεπτοκοκκικά ομάδας B αντιγόνο, H. influenzae τύπου b αντιγόνο, S. pneumoniae καψικού αντιγόνου, N. meningitidis A, C, Y, W135 αντιγόνα, ή N. meningitidis B / E. coli K1 αντιγόνο θα δώσει ένα αντίδραση συγκόλλησης με την κατάλληλη Test Latex.

13. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

13.1 Υγρά Σώματος και Αίματος Πολιτισμών

Κλινικές μελέτες διεξήχθησαν σε 15 κέντρα χρησιμοποιώντας δείγματα σωματικού υγρού (νωπό και αποθηκεύεται κατεψυγμένο) και τα υπερκείμενα καλλιέργειας αίματος. Και οι δύο παραδοσιακές και πολιτιστικές ραδιομετρική τεχνικές που χρησιμοποιούνται στις μελέτες καλλιέργειας αίματος. Αποθηκευμένα δείγματα υγρών του σώματος που δεν είχαν υποστεί θερμική επεξεργασία, όπως περιγράφεται υπό Προετοιμασία των κλινικών δειγμάτων, τμήμα 8. Εκτεταμένες εργαστηριακές δοκιμές έδειξαν καμία σημαντική απώλεια του αντιγόνου μετά από θέρμανση με αυτή τη διαδικασία.

ευαισθησία

Η ευαισθησία του κάθε λάτεξ στο κιτ ιδρύθηκε από δοκιμές σε θετική για το ομόλογο οργανισμό ή για την οποία δεν υπάρχει άλλη ένδειξη λοίμωξης (κλινική διάγνωση συν άλλα τεστ αντιγόνου θετικά δείγματα πολιτισμού).

Οι Πίνακες 2 έως 6 δείχνουν τα αριθμοί κάθε τύπο δείγματος δοκιμάζονται με τις μεμονωμένες λάτεξ μαζί με τον αριθμό των θετικών αποτελεσμάτων που λαμβάνονται. Η ευαισθησία της κάθε λάτεξ στην ανίχνευση βακτηριακό αντιγόνο στο ENY ήταν 64.3% (9/14) για Wellcogen Strep B, 96.3% (78/81) για την Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45) για Wellcogen S. pneumoniae , 71% (29/41) για Wellcogen N. meningitidis ACY W135 και 62.5% (10/16) για Wellcogen N. meningitidis B / E. coli K1.

Εξειδίκευση

Η εξειδίκευση καθενός από τα αντιδραστήρια Wellcogen αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας σωματικού υγρού (νωπά και κατεψυγμένα) και τα δείγματα καλλιέργειας αίματος από ασθενείς με βακτηριακή ή άσηπτης μηνιγγίτιδας και άλλες άσχετες συνθήκες.

Οι οργανισμοί απομονώθηκαν από τα μολυσμένα δείγματα ήταν H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis συμπεριλαμβανομένων των ομάδων A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, αλφα-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο, β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας α, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii και ένα βακτήριο κολοβακτηρίδια.

Η εξειδίκευση των πέντε λάτεξ Wellcogen σε δοκιμασίες σε CSF ήταν μεγαλύτερη από 98%. Οι λεπτομέρειες για τον αριθμό των δειγμάτων που ελέγχθηκαν και την ιδιαιτερότητα της κάθε Wellcogen με κάθε τύπο υπόδειγμα που παρατίθεται στους πίνακες 2 έως 6.

13.2 καλλιέργειες πλάκα (N. meningitidis B/E. coli K1).

N. meningitidis και E. coli καλλιέργειες καλλιεργούνται σε ένα εμπλουτισμένο μέσο άγαρ ελέγχθηκαν στα εργαστήρια του νοσοκομείου και In-house. Όλα N. meningitidis της ομάδας B και E. coli K1 καλλιέργειες προσδιορίστηκαν σωστά. Δεν υπήρχαν διασταυρούμενες αντιδράσεις με άλλες ομάδες του N. meningitidis ή άλλα αντιγόνα E. coli K (Πίνακας 7). Ένα υψηλό ποσοστό των καλλιεργειών E. coli με άλλα αντιγόνα K που δοκιμάστηκαν έδωσαν μη ειδικές αντιδράσεις (Πίνακας 7).

Πίνακας 1

Δείγματα που έχουν αξιολογηθεί με μεμονωμένα αντιδραστήρια λάτεξ Wellcogen

δείγμα	Wellcogen Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/ E. coli K1
CSF	+	+	+	+	+
ούρα	+	–	–	–	–
Πολιτισμός Αίμα	+	+	+	+	+
βακτηριακές αποικίες	–	–	–	–	+

Key
+ Data available to support this application.
– No data available.

Πίνακας 2

Τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών για Wellcogen Strep B

	ευαισθησία[a]		Εξειδίκευση[b]	
δείγμα	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός
CSF	14	9	34	0
ούρα	19	16	18	1[c]
Πολιτισμός Αίμα	9	9	369	4[d]

[a] β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας B απομονωμένες / υποδεικνύεται (κλινική διάγνωση / άλλη δοκιμασία αντιγόνου).
[b] Βακτήρια, εκτός από Strep. B / μη ανάπτυξη.
[c] P. mirabilis απομονωμένες.
[d] Staph. epidermidis; β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο. ομάδα A; E. coli + Enterococcus. Staph. epidermidis + Enterococcus απομονωμένες.

Πίνακας 3

Τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών για Wellcogen H. influenzae b

	ευαισθησία		Εξειδίκευση	
δείγμα	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός
CSF	81	78	366[a]	2[b]
Πολιτισμός Αίμα	54	54	1566[c]	5[d]

[a] Ένα πρόσθετο δείγμα CSF έδωσε μια μη-ειδική αντίδραση.
[b] Ένα δείγμα άσηπτη; E. coli που απομονώνονται από άλλο δείγμα.
[c] Δύο επιπλέον υπερκείμενα καλλιέργειας αίματος έδωσε μη ειδικές αντιδράσεις.
[d] Μία άσηπτη δείγμα. Άλλα δείγματα μεγάλωσε: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; άλφα-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο.

Πίνακας 4

Αποτελέσματα των κλινικών μελετών σχετικά Wellcogen S. pneumoniae

	ευαισθησία		Εξειδίκευση	
δείγμα	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός
CSF	45	39	461[a]	2[b]
Πολιτισμός Αίμα	113	109	1512	7[c]

[a] Ένα επιπλέον CSF έδωσε μια μη-ειδική αντίδραση.
[b] Aerogenes Enterobacter; Κολοβακτηρίδια βακτήριο.
[c] Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus; Strep. viridans απομονωθεί από 4 δείγματα.

Πίνακας 5

Αποτελέσματα των κλινικών μελετών σχετικά Wellcogen N. meningitidis ACY W135

	ευαισθησία		Εξειδίκευση	
δείγμα	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός
CSF	41a	29	423	2b
Πολιτισμός Αίμα	7	7	1615	2d

[a] Περιλαμβάνει 8 ομάδα A, 25 της ομάδας C και 1 ομάδα Y (οι υπόλοιπες δεν είναι ομαδοποιημένοι).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Πέντε επιπλέον δείγματα ούρων έδωσε μη ειδικές αντιδράσεις.
[d] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus.

Πίνακας 6

Αποτελέσματα των κλινικών μελετών σχετικά Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

	ευαισθησία		Εξειδίκευση	
δείγμα	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός	Αρ. δοκιμαστεί	Αρ. θετικός
CSF				
N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Πολιτισμός Αίμα:				
N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Τα δείγματα φυλάσσονται κατεψυγμένα. Όλα τα άλλα δείγματα που ελέγχθηκαν φρέσκα.
[b] Αερόβια και αναερόβια καλλιέργειες (β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο Α) για ίδιο ασθενή; Πηκτάση αρνητικών σταφυλόκοκκων.

Πίνακας 7

Ταυτοποίηση των πολιτισμών χρησιμοποιώντας Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

πολιτισμός[a]	+	–
N. meningitidis group A	0	16
N. meningitidis group B	10	0
N. meningitidis group C	0	18
N. meningitidis group 29E	0	8
N. meningitidis group W135	0	7
N. meningitidis group X	0	4
N. meningitidis group Y	0	5
N. meningitidis group Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – other antigens	0	13[b]

[a] Καλλιεργειών που ταυτοποιούνται με συγκόλληση slide.
[b] Επιπλέον 10 καλλιέργειες έδωσαν μη ειδικές αντιδράσεις.

14. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

IFU X7713E Αναθεωρημένος Ιανουάριος, 2025

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent DA2 6PT, UK

Για τεχνική βοήθεια, www.thermofisher.com

ES

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 | US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 | ROW +31 20 794 7071

Kit de antígeno bacteriano Wellcogen

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. INDICACIONES

El kit de antígeno bacteriano Wellcogen™ ofrece una serie de pruebas rápidas de látex para la detección cualitativa de antígeno de estreptococos del grupo B, Haemophilus influenzae del tipo b, Streptococcus pneumoniae (neumococos), Neisseria meningitidis (meningococos) de los grupos A, B, C, Y o W135 y Escherichia coli K1 presentes en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y hemocultivos como consecuencia de una infección. El kit también puede utilizarse para analizar muestra de orina a fin de determinar la presencia de antígeno de estreptococos del grupo B, y para analizar cultivos de placas a fin de determinar la presencia de N. meningitidis grupo B o Escherichia coli K1. (La tabla 1 contiene información sobre las indicaciones respaldadas por datos clínicos).

NOTA: Las pruebas realizadas directamente con muestras clínicas están indicadas para la detección, y deben complementar, y no sustituir, los procedimientos con cultivos. Los resultados deben utilizarse junto con otros datos; p. ej., síntomas, resultados de otras pruebas, impresiones clínicas, etc.

2. RESUMEN

La meningitis tiene una gran variedad de causas posibles, tanto infecciosas como no infecciosas. Si la meningitis bacteriana no se trata de manera inmediata y eficaz, la enfermedad es potencialmente mortal. La identificación temprana del agente infeccioso puede ser muy útil para administrar al paciente la quimioterapia adecuada. Hay muchas especies bacterianas que se han relacionado con la meningitis. Los estreptococos del grupo B y E. coli K1 son las dos causas más frecuentes de septicemia neonatal, mientras que en los grupos de más edad los aislados más frecuentes son H. influenzae del tipo b, S. pneumoniae y N. meningitidis de los grupos A, B, C, Y y W135. Estos microorganismos portan antígenos de superficie de polisacáridos específicos, una cantidad de los cuales se difunde en medios de cultivo o en líquidos corporales tales como el LCR o el suero, y se excreta en la orina. Los antígenos pueden detectarse mediante métodos inmunológicos sensibles, como la contrainmunoelectroforesis y la aglutinación con látex[2,5,6,10].

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El reactivo Wellcogen consiste en partículas de látex de poliestireno que se han recubierto con anticuerpos contra los antígenos bacterianos. Estas partículas de látex se aglutinan si hay presente suficiente antígeno homólogo. Los reactivos de los estreptococos y de H. influenzae son específicos del grupo B y del tipo b, respectivamente, el reactivo de S. pneumoniae está sensibilizado con anticuerpos purificados a partir de un suero omnivalente, y el reactivo polivalente de N. meningitidis reacciona con antígenos de los grupos A, C, Y y W135. El antígeno de menigococos del grupo B es más difícil de detectar[6], además de estar relacionado estructural e inmunológicamente con el antígeno de E. coli K1[7]; ambos reaccionan con el reactivo de N. meningitidis del grupo B.

4. DEFINICIONES DE LOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario de diagnóstico in vitro
	Consultar las instrucciones de uso (IFU)
	Limitaciones de temperatura (temperatura de conservación)
Σ N	Contenido suficiente para <N> pruebas
LOT	Código de lote (número de lote)
	Usar antes de (fecha de caducidad)
UDI	Identificador único del producto
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea
UK CA	Evaluación del cumplimiento normativo de Reino Unido
CE	Evaluación de conformidad europea
	Fabricante

5. CONTENIDO DEL KIT, PREPARACIÓN PARA EL USO Y CONSERVACIÓN

El kit de antígeno bacteriano Wellcogen incluye suficientes reactivos para realizar 30 pruebas.

Consulte también la sección **6, Precauciones.**

Todos los componentes deben conservarse entre 2 y 8°C para que retengan su actividad hasta la fecha de caducidad del kit.

Antes de su uso, deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18-30°C) y mézclelos. Después del uso, vuelva a guardar en el refrigerador los reactivos no utilizados.

Instrucciones de uso

Tarjetas de reacción desechables (2 paquetes)
Bastoncillos de mezcla desechables (5 paquetes)
Cuentagotas desechables (1 recipiente)
Tetina de goma negra (1)

TEST LATEX **Látex de la prueba**

Estreptococos B (tapa rosa)
H. influenzae b (tapa azul pálido)
S. pneumoniae (tapa amarilla)
N. meningitidis ACY W135 (tapa gris)
N. meningitidis B / E. coli K1 (tapa marrón)

Cinco frascos cuentagotas, uno específico para cada uno de los grupos anteriores, con suspensiones al 0,5% de látex de poliestireno en tampón con Bronidox® al 0,05% y/o azida sódica al 0,1% como conservante. Las partículas de látex están recubiertas con el anticuerpo de conejo adecuado, indicado en la etiqueta, excepto el reactivo de N. meningitidis del grupo B/ E. coli K1, que está recubierto con anticuerpo monoclonal murino.

CONTROL LATEX **Látex de control**

Cinco frascos cuentagotas (tapa azul oscuro) con suspensiones al 0,5% de látex de poliestireno en tampón con Bronidox® al 0,05% y/o azida sódica al 0,1% como conservante. Las partículas de látex están recubiertas con una preparación adecuada de globulina de conejo o, en el caso del látex de N. meningitidis grupo B y E. coli K1, un anticuerpo monoclonal murino contra Bordetella bronchiseptica.

Las suspensiones de látex se suministran listas para su uso y deben conservarse entre 2 y 8°C en posición vertical hasta la fecha de caducidad del kit. Tras el almacenamiento prolongado es posible que se observe un cierto grado de agregación o sequedad del látex alrededor de la parte superior del frasco. En dichos casos, el frasco de látex debe agitarse vigorosamente unos segundos hasta lograr la resuspensión. NO CONGELE ESTOS PRODUCTOS.

CONTROL + **Control positivo polivalente**

Dos frascos (tapa azul) con extractos bacterianos liofilizados que contienen antígenos de cepas representativas de cada una de las especies bacterianas para las que se suministra látex. Contiene bronopol al 0,01% antes de la reconstitución, y al 0,004% una vez reconstituido.

Reconstitúyalo con 3,6 ml de agua destilada estéril. Tras añadir agua, deje reposar el frasco unos minutos y, a continuación, agítelo suavemente con un movimiento giratorio para mezclar su contenido. Conserve el antígeno reconstituido entre 2 y 8°C durante un máximo de 6 meses.

CONTROL + **Control negativo**

Un cuentagotas (tapa blanca) con tampón de solución salina de glicina de pH 8,2 con Bronidox® al 0,05% como conservante.

6. PRECAUCIONES

IVD

Los reactivos son para uso diagnóstico “in vitro” solamente.

Para uso por profesionales solamente.

Para obtener información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de datos sobre seguridad de los materiales y la documentación del producto.

INFORMACIÓN SANITARIA Y DE SEGURIDAD

6.1 Los látex de la prueba y de control de estreptococos del grupo B, H. influenzae de tipo b, S. pneumoniae y N. meningitidis ACY W135 contienen azida sódica al 0,1%. Las azidas pueden reaccionar con el cobre y el plomo utilizados en algunos sistemas de cañerías, y formar sales explosivas. Las cantidades utilizadas en este kit son pequeñas; no obstante, al desechar materiales que contengan azidas debe dejarse correr mucha agua.

6.2 De acuerdo con los principios de las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda encarecidamente tratar los líquidos corporales como potencialmente infecciosos y manipularlos con las precauciones necesarias.

6.3 Al manipular medios de hemocultivos radiométricos deben seguirse las reglas básicas de seguridad relacionadas con la radiación. Estas incluyen:

a) El material radioactivo debe conservarse en una zona designada para ello y en un recipiente aprobado.

b) La manipulación de la radioactividad debe realizarse en una zona designada para ello.

c) El material radioactivo no debe pipetearse con la boca.

d) No se debe comer, beber ni fumar en la zona designada.

e) Las manos deben lavarse minuciosamente después de utilizar material radioactivo.

f) Los requisitos de la eliminación deben consultarse con el agente de seguridad de radiación local.

6.4 Los aparatos no desechables deben esterilizarse mediante un procedimiento adecuado después de su uso, aunque el método preferido es la esterilización en autoclave durante 15 minutos a 121°C. Los materiales desechables deben tratarse en autoclave o incinerarse. Los derrames de materiales potencialmente infecciosos deben retirarse inmediatamente con papel absorbente, y las zonas contaminadas deben limpiarse con algodón o gasa y un desinfectante bacteriano estándar o alcohol al 70%. NO utilice hipoclorito sódico. Los materiales utilizados para limpiar los derrames, incluidos los guantes, deben desecharse como residuos biopeligrosos.

6.5 No pipetee con la boca. Lleve puestos guantes desechables y protección ocular cuando manipule muestras y cuando realice el ensayo. Lávese bien las manos cuando acabe.

6.6 Cuando se utilizan de acuerdo con los principios de las buenas prácticas de laboratorio, las buenas normas de higiene laboral y las indicaciones de estas instrucciones de uso, no se considera que los reactivos suministrados presenten ningún riesgo para la salud.

PRECAUCIONES ANALÍTICAS

6.7 No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad indicada.

6.8 Antes de utilizar los reactivos de látex, debe dejarse que estos alcancen la temperatura ambiente (de 18 a 30°C). Los reactivos de látex que muestren signos de agregación o grumos antes de su uso pueden haberse congelado, y no deben utilizarse.

6.9 Al utilizar frascos cuentagotas, es importante mantenerlos en vertical y que la gota se forme en la punta del pico. Si el pico se moja, se formará un volumen incorrecto alrededor del extremo, y no en la punta; si ocurre esto, seque el pico antes de continuar.

6.10 Los reactivos suministrados con cada kit están elaborados para utilizarse conjuntamente, y no deben emplearse con reactivos de kits de un número de lote diferente.

6.11 No toque las zonas de reacción de las tarjetas.

6.12 En este ensayo pueden utilizarse rotadores mecánicos. Se ha observado que las siguientes características son satisfactorias:

i) Rotadores orbitales (también denominados rotadores dimensionales) que funcionen a 25 rpm con un ángulo de rotaciónaproximado de entre 9 y 10,5 grados, o que funcionen a 18 rpm con un ángulo de rotación de entre 16 y 17,5 grados.

6.13 Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podría hacer que se obtuviesen resultados erróneos.

7. RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

7.1 Las muestras de líquidos corporales (p. ej., LCR u orina) deben analizarse lo antes posible tras su recogida. Si el líquido no puede analizarse inmediatamente, puede conservarse de un día para otro entre 2 y 8°C, o durante períodos más prolongados si se congelan entre –15 y –25°C. Si la muestra debe someterse a análisis bacterianos, estos deben prepararse antes de realizar la prueba de látex, para evitar contaminar la muestra.

7.2 Los hemocultivos pueden muestrearse y analizarse después de entre 18 y 24 horas de incubación a 37°C, o tan pronto como se observe proliferación bacteriana.

7.3 Cultivos en placas (N. meningitidis B/E. coli K1 solamente). Las colonias aisladas cultivadas sobre medio de agar enriquecido (p. ej., sangre o agar de chocolate) pueden analizarse después de mantenerse en incubación a 37°C de un día para otro. Debe realizarse una tinción Gram para facilitar la interpretación del resultado de la prueba de látex.

8. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

MATERIALES NECESARIOS SUMINISTRADOS

Consulte la sección **5, Contenido del kit.**

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Baño de agua hirviendo

Centrífuga de laboratorio o filtros de membrana (0,45 µm)

Rotador (opcional, consulte la sección **6, Precauciones**)

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS CLÍNICAS

8.1 Las muestras de LCR y orina deben calentarse antes de analizarse con el procedimiento Wellcogen, a fin de reducir al mínimo las reacciones inespecíficas[4,6]. Se recomiendan los siguientes procedimientos:

a) Caliente la muestra durante 5 minutos en un baño de agua hirviendo. Enfríe la muestra hasta la temperatura ambiente (de 18 a 30°C) y aclárela mediante centrifugación o filtración por membrana (0,45 µm) antes del análisis. Para lograr la máxima sensibilidad, las muestras de orina pueden concentrarse a un factor de hasta 25 en un concentrador Minicon® B-15. Aclárelas como se describe más arriba antes del análisis.

8.2 Hemocultivos. Centrifugue una muestra de entre 1 y 2 ml para sedimentar los glóbulos rojos; por ejemplo, a 1000 g entre 5 y 10 minutos. Realice la prueba de látex con el sobrenadante.

Si tiene lugar una reacción inespecífica con el sobrenadante de un hemocultivo (consulte la sección 10, Interpretación de los resultados), caliente la muestra en un baño de agua hirviendo durante 5 minutos, enfríela a temperatura ambiente (de 18 a 30°C), aclárela mediante centrifugación y repita la prueba.

8.3 Cultivos en placas (N. meningitidis B/E. coli K1 solamente). Realice la prueba directamente en la placa de cultivo.

PROCEDIMIENTO

Se recomienda leer atentamente la sección 6, Precauciones, antes de realizar la prueba.

Muestras de líquidos corporales y sobrenadantes de hemocultivos:

NOTA: Si solamente hay un volumen limitado de muestra analítica, esta debe utilizarse primero con los látex de la prueba y, si se obtiene un resultado positivo, analizarse con el látex de control adecuado. Si se dispone de suficiente muestra, esta debe analizarse simultáneamente con los látex de la prueba y de control.

Paso 1	Procese la muestra como se describe en **Preparación de las muestras clínicas.**	
Paso 2	Agite los reactivos de látex.	
Paso 3	Vierta 1 gota de cada **látex de la prueba** o **látex de control** en un círculo aparte de una tarjeta de reacción. Asegúrese de que los frascos cuentagotas se mantienen en posición vertical para dispensar una gota adecuada. (Consulte la sección **6, Precauciones**).	**1 gota**
Paso 4	Utilizando un cuentagotas desechable, dispense 1 gota (aproximadamente 40 µl) de **muestra analítica** al lado de cada gota de látex.	**1 gota**
Paso 5	**Mezcle** el contenido de cada círculo con un bastoncillo de mezcla y extiéndalo para cubrir toda el área del círculo. Utilice un bastoncillo para cada círculo y deséchelo para su eliminación segura después del uso.	
Paso 6	**Rote** la tarjeta lentamente y **compruebe** si se produce aglutinación durante 3 minutos, manteniendo la tarjeta a la distancia de lectura normal (de 25 a 35 cm) de los ojos. No utilice una lupa. Puede utilizarse rotación mecánica (3 minutos) (Consulte la sección **6, Precauciones**). Los patrones obtenidos están bien definidos y pueden reconocerse bajo todas las condiciones de iluminación normales.	**3 min**
Paso 7	Deseche la tarjeta de reacción usada para su eliminación segura.	

Cultivos en placas:
(Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 solamente):

Paso 1	Agite los reactivos de látex.	
Paso 2	Por cada cultivo que se desee analizar, vierta 1 gota de **látex de la prueba** en un círculo de una tarjeta de reacción y 1 gota de **látex de control** en un círculo aparte. NOTA: Es esencial utilizar el **látex de control** para los cultivos sospechosos de E. coli.	**1 gota**
Paso 3	Con un bastoncillo de mezcla, recoja un poco del cultivo tocándolo con el lado plano del bastoncillo. Como guía, **microorganismos** debe recogerse una cantidad de microorganismos equivalente a 1 colonia grande.	**Muestra de**
Paso 4	Emulsione la muestra de cultivo en la gota de látex de la prueba frotando con el lado plano del bastoncillo. Frote minuciosamente, pero con cuidado de no dañar la superficie de la tarjeta. Extienda el látex para cubrir toda la la superficie posible del círculo. Deseche el bastoncillo de mezcla para su eliminación segura.	
Paso 5	Utilizando otro bastoncillo, emulsione una muestra similar de cultivo en el látex de control.	
Paso 6	Rote la tarjeta lentamente y compruebe si se produce 20 s aglutinación durante 20 segundos, manteniendo la tarjeta a la distancia de lectura normal (de 25 a 35 cm) de los ojos. No utilice una lupa. Los patrones obtenidos están bien definidos y pueden reconocerse bajo todas las condiciones de iluminación normales.	
Paso 7	Deseche la tarjeta de reacción usada para su eliminación segura.	

9. CONTROL DE CALIDAD

Los siguientes procedimientos deben realizarse inicialmente con cada entrega de kits de la prueba y con cada tanda analítica de muestras. En la práctica, una tanda analítica puede definirse como un periodo de análisis de hasta 24 horas. Cualquier desviación de los resultados esperados indica que puede haber un problema con los reactivos que debe resolverse antes de continuar el uso con muestras clínicas.

INSPECCIÓN VISUAL

Las suspensiones de látex deben inspeccionarse siempre para comprobar si muestran agregación al verterlas sobre la tarjeta de la prueba; si presentan aglutinación antes de añadir la muestra analítica, la suspensión no debe utilizarse. Tras el almacenamiento prolongado es posible que se observe un cierto grado de agregación o sequedad alrededor de la parte superior del frasco. En dichos casos, el frasco debe agitarse vigorosamente unos segundos hasta lograr la resuspensión.

PROCEDIMIENTO DEL CONTROL POSITIVO

La reactividad de la prueba puede confirmarse añadiendo control positivo polivalente a un círculo de reacción en el que la muestra analítica no haya aglutinado el látex de la prueba después de 3 minutos de rotación.

Paso 1	Utilice un cuentagotas desechable para dispensar 1 gota de control positivo en el círculo que contenga el látex de la prueba y muestra.	**1 gota**
Paso 2	Mezcle utilizando un bastoncillo de mezcla y deséchelo para su eliminación segura.	
Paso 3	Rote la tarjeta manualmente o mediante un rotador durante otros 3 minutos. Transcurrido este tiempo, el látex de la prueba debe mostrar una aglutinación visible.	**3 min**
Paso 4	Deseche la tarjeta de reacción usada para su eliminación segura.	

PROCEDIMIENTO DEL CONTROL NEGATIVO

Si al menos una de las muestras analíticas de una tanda analítica obtiene un resultado negativo con los látex de la prueba y de control (o solamente con el látex de la prueba cuando no se haya utilizado látex de control), esto constituye un control negativo válido de los reactivos y no son necesarios más análisis.

Si una muestra analítica presenta aglutinación con el látex de la prueba, pero no con el látex de control, el látex de la prueba debe comprobarse con el control negativo o con medio de hemocultivo sin inocular, como sea adecuado (véase el procedimiento descrito a continuación).

Paso 1	Vierta una gota del látex de la prueba en un círculo de una tarjeta de reacción.	**1 gota**
Paso 2	Dispense una gota de control negativo o de hemocultivo sin inocular a continuación del látex de la prueba.	**1 gota**
Paso 3	Mezcle utilizando un bastoncillo de mezcla y deséchelo para su eliminación segura.	
Paso 4	Rote la tarjeta manualmente o mediante un rotador durante otros 3 minutos. Transcurrido este tiempo, el látex de la prueba no debe mostrar una aglutinación visible.	**3 min**
Paso 5	Deseche la tarjeta de reacción usada para su eliminación segura.	

En los análisis de muestras de LCR y orina debe utilizarse el control negativo suministrado con la prueba.

En los análisis de hemocultivos debe utilizarse como control negativo una muestra de medio de hemocultivo sin inocular del mismo origen que la muestra. Nota: El análisis de medios analíticos sin inocular es importante, ya que algunas fórmulas de medios de hemocultivo pueden arrojar resultados falsos positivos.

Notas:

a) Si se desea, pueden utilizarse muestras positivas y negativas previamente analizadas, divididas en partes alícuotas y conservadas entre –15 y –25°C o a temperaturas inferiores, como controles positivos y negativos, respectivamente. El control positivo también puede utilizarse en lugar de la muestra analítica.

b) En las pruebas de identificación de colonias (Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 solamente), la eficacia de los reactivos de látex de la prueba y de control puede confirmarse utilizando cultivos frescos de cepas de bacterias de referencia mantenidos de un día para otro, a continuación del método descrito en Procedimiento del ensayo. Cepas de referencia adecuadas son:

ATCC 13090: N. meningitidis del grupo B (reactividad positiva)

ATCC 23503: E. coli del tipo K1 (reactividad positiva)

ATCC 13077: N. meningitidis del grupo A (reactividad negativa)

ATCC 13090 y ATCC 23503 deben provocar aglutinación con el látex de la prueba y ninguna aglutinación significativa en

el látex de control, ATCC 13077 no debe provocar ninguna aglutinación significativa con el látex de la prueba ni con el de control.

10. RESULTADOS

LECTURA DE LOS RESULTADOS

Una reacción **positiva** la indica el desarrollo de un patrón aglutinado en los 3 minutos (20 segundos en el caso de los análisis de colonias) posteriores a la mezcla del látex con la muestra analítica, con presencia de una aglutinación claramente visible de las partículas de látex (figura 1).

La velocidad de la aparición y la calidad de la aglutinación dependen de la fuerza del antígeno, y varían de grumos de gran tamaño que aparecen unos segundos después de la mezcla, a grumos pequeños que se forman con bastante lentitud. En la identificación de cultivos, la mayoría de las reacciones positivas serán casi instantáneas.

En una reacción **negativa**, el látex no se aglutina y el aspecto lechoso se mantienen prácticamente sin cambios a lo largo de toda la prueba (figura 2). No obstante, tenga en cuenta que, dependiendo de la agudeza visual del operador, es posible que se detecten rastros tenues de granularidad en patrones negativos. En la identificación de cultivos, algunas cepas pueden provocar una agregación «fibrosa» del látex con un fondo lechoso; esto debe interpretarse como una reacción negativa.

NOTA: Las partículas de látex utilizadas en las suspensiones de los látex de la prueba y de control Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 no son las mismas que las utilizadas para los demás reactivos, y producen una aglutinación más fina.

Figura 1

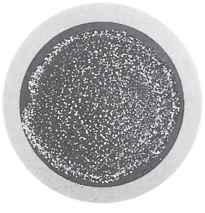
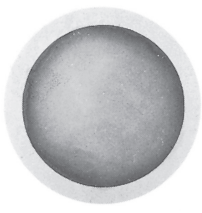


Figura 2



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultado positivo

La aglutinación clara de un solo látex de la prueba acompañada de reacciones negativas de todos los demás reactivos de látex de la prueba y del látex de control indica la presencia e identidad de un antígeno bacteriano en la muestra analítica. Como regla general, el que una muestra neonatal obtenga un resultado positivo con Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 indica infección por E. coli K1; en los pacientes de mayor edad, es más probable que la infección sea por meningococos del grupo B.

Resultado negativo

Las reacciones negativas con todos los reactivos de látex de la prueba indican la ausencia de un nivel detectable de los antígenos bacterianos en el líquido analizado, pero no descartan la posibilidad de una infección causada por estos microorganismos, y si los síntomas persisten, puede ser aconsejable realizar la prueba en muestras posteriores o alternativas, o después de la concentración de la muestra de orina.

En los cultivos, la ausencia de aglutinación en los reactivos Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 indica que es improbable que sean N. meningitidis del grupo B o E. coli K1.

Resultado no interpretable

La aglutinación de más de un reactivo de látex de la prueba o de los látex de la prueba y de control correspondientes indica una reacción inespecífica. En la mayoría de los casos, las reacciones inespecíficas con líquidos corporales pueden eliminarse calentando y aclarando la muestra[4] (consulte la sección 8, Preparación de las muestras clínicas). Si tiene lugar una reacción inespecífica con el sobrenadante de un hemocultivo, caliente la muestra en un baño de agua hirviendo durante 5 minutos, enfríela a temperatura ambiente (de 18 a 30°C), aclárela mediante centrifugación y repita la prueba.

11. LIMITACIONES DE LA EFICACIA

11.1 Líquidos corporales de lactantes (estreptococos del grupo B solamente): Pueden dar resultados falsos negativos con muestras que contengan niveles de antígeno inferiores a los límites de detección de este dispositivo. Los resultados negativos deben confirmarse con cultivos de caldos selectivos. Un resultado positivo indica la presencia de antígeno de estreptococos del grupo B; el resultado no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables.

11.2 Líquidos corporales de lactantes (estreptococos del grupo B solamente): El uso de este dispositivo no debe sustituir a los cultivos microbiológicos. La eficacia de este dispositivo para la predicción de enfermedades causadas por estreptococos del grupo B a partir de pruebas de orina de lactantes no está demostrada.

11.3 Las infecciones por estreptococos del grupo B tienen lugar principalmente en recién nacidos. Los resultados positivos obtenidos con muestras de líquidos corporales de pacientes de más de seis meses deben interpretarse con prudencia. Los resultados positivos obtenidos con sobrenadantes de hemocultivos de pacientes de cualquier edad pueden ser significativos.

11.4 El que la prueba arroje un resultado positivo depende de la presencia de un nivel detectable de antígeno en el líquido corporal o en el medio de hemocultivo.

11.5 Se han documentado algunos ejemplos de bacterias no relacionadas que poseen antígenos comunes y, como en cualquier sistema de análisis inmunológico, no puede descartarse la posibilidad de que se produzcan reacciones cruzadas en el látex[1,3,8,9].

12. RESULTADOS ESPERADOS

Las muestras que contengan un nivel detectable de antígeno de estreptococos del grupo B, antígeno de H. influenzae del tipo b, antígeno capsular de S. pneumoniae, antígenos de N. meningitidis A, C, Y o W135, o antígeno de N. meningitidis B/E. coli K1 producirá una reacción de aglutinación con el látex de la prueba adecuado.

13. EFICACIA ANALÍTICA

13.1 Líquidos corporales y hemocultivos

Se realizaron estudios clínicos en 15 centros utilizando muestras de líquidos corporales (frescas y conservadas congeladas) y sobrenadantes de hemocultivos. En los estudios de hemocultivos se utilizaron técnicas de cultivo tanto tradicionales como radiométricas. Las muestras de líquidos corporales conservadas no se trataron con calor como se describe en el apartado 8, Preparación de las muestras clínicas. Una gran cantidad de pruebas de laboratorio realizadas no han observado una pérdida considerable de antígeno tras el calentamiento mediante este procedimiento.

Sensibilidad

La sensibilidad de cada látex del kit se estableció a partir de análisis de muestras de cultivos positivas en el microorganismo homólogo o que presentaban otros indicios de infección (diagnóstico clínico más otras pruebas de antígenos positivas).

Las tablas de la 2 a la 6 muestran los números de cada tipo de muestra analizada con los látex individuales, junto con el número de resultados positivos obtenidos. La sensibilidad de cada látex para detectar antígeno bacteriano en LCR fue del 64.3% (9/14) en el caso de Wellcogen Strep B, 96.3% (78/81) en el de Wellcogen H. nfluenzae b, 86.7% (39/45) en el de Wellcogen S. pneumoniae, 71% (29/41) en el de Wellcogen N. meningitidis ACY W135 y 62.5% (10/16) en el de Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Especificidad

La especificidad de cada uno de los reactivos Wellcogen se evaluó utilizando líquido corporal (fresco y congelado) y muestras de hemocultivos de pacientes con meningitis bacteriana o aséptica y otras enfermedades no relacionadas.

Los microorganismos aislados de las muestras infectadas fueron H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis (incluidos los grupos A, B, C e Y), E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, estreptococos alfahemolíticos, estreptococos betahemolíticos del grupo A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii y una bacteria coliforme.

Las especificidades de los cinco látex Wellcogen en las pruebas de LCR fueron superiores al 98%. Los detalles del número de muestras analizadas y de la especificidad de cada Wellcogen con cada tipo de muestra se presentan en las tablas de la 2 a la 6.

13.2 Cultivos en placas (N. meningitidis B/E. coli K1).

Se analizaron en laboratorios hospitalarios e internamente cultivos de N. meningitidis y E. coli realizados sobre un medio de agar enriquecido. Todos los cultivos de N. meningitidis del grupo B y de E. coli K1 se identificaron correctamente. No hubo reacciones cruzadas con otros grupos de N. meningitidis ni con otros antígenos de E. coli K (tabla 7). Una alta proporción de los cultivos de E. coli con otros antígenos K que se analizaron mostraron reacciones inespecíficas (tabla 7).

Tabla 1

Muestras que se han evaluado con reactivos de látex Wellcogen individuales

Muestra	Wellcogen				
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/E. coli K1
LCR	+	+	+	+	+
Orina	+	–	–	–	–
Hemocultivo	+	+	+	+	+
Colonias bacterianas	–	–	–	–	+

Leyenda
+ Datos disponibles para respaldar esta aplicación.
– No hay datos disponibles.

Tabla 2

Resultados de estudios clínicos de Wellcogen Strep B

Muestra	Sensibilidad[a]		Especificidad[b]	
	N.° analizadas	N.° positivas	N.° analizadas	N.° positivas
LCR	14	9	34	0
Orina	19	16	18	1[c]
Hemocultivo	9	9	369	4[d]

[a] Estreptococos betahemolíticos del grupo B aislados/indicados (diagnóstico clínico/otra prueba de antígeno).
[b] Otras bacterias aparte de estreptococos B/ausencia de crecimiento.
[c] Se aisló P. mirabilis.
[d] Se aislaron Staph. epidermidis; estreptococos betahemolíticos del grupo A; E. coli + enterococos; Staph. epidermidis + enterococos.

Tabla 3

Resultados de estudios clínicos de Wellcogen H. influenzae b

Muestra	Sensibilidad		Especificidad	
	N.° analizadas	N.° positivas	N.° analizadas	N.° positivas
LCR	81	78	366[a]	2[b]
Hemocultivo	54	54	1566[c]	5[d]

[a] Una muestra de LCR adicional mostró una reacción inespecífica.
[b] Una muestra aséptica; se aisló E. coli de otra muestra.
[c] Dos sobrenadantes de hemocultivos adicionales mostraron reacciones inespecíficas.
[d] Una muestra aséptica. Otras muestras mostraron: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; estreptococos alfahemolíticos.

Tabla 4

Resultados de estudios clínicos de Wellcogen S. pneumoniae

Muestra	Sensibilidad		Especificidad	
	N.° analizadas	N.° positivas	N.° analizadas	N.° positivas
LCR	45	39	461[a]	2[b]
Hemocultivo	113	109	1512	7[c]

[a] Un LCR adicional mostró una reacción inespecífica.
[b] Enterobacter aerogenes; bacteria coliforme.
[c] Se aislaron pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + enterococos; Strep. viridans de 4 muestras.

Tabla 5

Resultados de estudios clínicos de Wellcogen N. meningitidis ACY W135

Muestra	Sensibilidad		Especificidad	
	N.° analizadas	N.° positivas	N.° analizadas	N.° positivas
LCR	41[a]	29	423	2[b]
Hemocultivo	7	7	1615	2[c]

[a] Incluye 8 del grupo A, 25 del grupo C y 1 del grupo Y (las restantes no se agruparon).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + enterococos.

Tabla 6

Resultados de estudios clínicos de Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Muestra	Sensibilidad		Especificidad	
	N.° analizadas	N.° positivas	N.° analizadas	N.° positivas
LCR N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Hemocultivo: N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Las muestras se conservaron congeladas. Todas las demás muestras se analizaron frescas.
[b] Cultivos aeróbicos y anaeróbicos (estreptococos betahemolíticos del grupo A) del mismo paciente; estafilococos coagulasa negativos.

Tabla 7

Identificación de cultivos mediante Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Cultivoa	+	–
N. meningitidis grupo A	0	16
N. meningitidis grupo B	10	0
N. meningitidis grupo C	0	18
N. meningitidis grupo 29E	0	8
N. meningitidis grupo W135	0	7
N. meningitidis grupo X	0	4
N. meningitidis grupo Y	0	5
N. meningitidis grupo Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli: otros antígenos	0	13b

[a] Cultivos identificados por aglutinación en portaobjetos.
[b] Otras 10 muestras mostraron reacciones inespecíficas.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

Para obtener asistencia técnica, www.thermofisher.com

X7713E. Revised Enero 2025

FR

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Trousse de détection d'antigènes bactériens Wellcogen

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. UTILISATION

La trousse de détection d'antigènes bactériens Wellcogen™ offre une série de tests latex rapides destinés à la détection qualitative des antigènes des streptocoques du groupe B, de Haemophilus influenzae type b, de Streptococcus pneumoniae (pneumocoques), de Neisseria meningitidis (méningocoques) des groupes A, B, C, Y ou W135 et d'Escherichia coli K1 présents dans le liquide céphalorachidien (LCR) et d'hémoculture en conséquence d'une infection. La trousse peut également être utilisée pour la détection des antigènes des streptocoques du groupe B dans d'urine, et pour la détection de N. meningitidis du groupe B ou d'Escherichia coli K1 pour des cultures sur boîtes. (Voir le tableau 1 qui donne des indications appuyées par des données cliniques).

REMARQUE : les tests effectués directement sur des échantillons cliniques ont une finalité de dépistage et doivent s'ajouter aux procédures de culture, non les remplacer. Les résultats doivent être utilisés conjointement avec d'autres données, par exemple les symptômes, les résultats d'autres tests, les impressions cliniques, etc.

2. RÉSUMÉ

La méningite présente une grande variété de causes potentielles, qui peuvent être infectieuses ou non. Si une méningite bactérienne n'est pas traitée promptement et efficacement, la maladie aura vraisemblablement une issue fatale. L'identification précoce de l'agent infectieux peut avoir une valeur inestimable pour l'administration au patient de la chimiothérapie appropriée et adéquate. De nombreuses espèces bactériennes ont été mises en cause dans la méningite. Le streptocoque du groupe B et E. coli K1 sont deux des causes les plus fréquentes de septicémie néonatale ; pour les groupes plus âgés, les isolats les plus souvent retrouvés sont H. influenzae type b, S. pneumoniae et N. meningitidis des groupes A, B, C, Y et W135.

Ces organismes portent des antigènes polysaccharidiques spécifiques de surface, dont une partie se répand dans le milieu de culture ou des liquides corporels tels que le LCR ou le sérum, et est excrétée dans l'urine. Les antigènes peuvent être détectés au moyen de méthodes immunologiques sensibles telles que l'électrosynérèse et l'agglutination au latex[2,5,6,10].

3. PRINCIPE DU TEST

Le réactif Wellcogen consiste en des particules de latex de polystyrène enrobées d'anticorps dirigés contre les antigènes bactériens. Ces particules de latex s'agglutinent en présence d'une quantité suffisante d'antigènes homologues. Les réactifs pour les streptocoques et H. influenzae sont spécifiques respectivement au groupe B et au type b, le réactif pour S. pneumoniae est sensibilisé avec des anticorps purifiés provenant d'un sérum omnivalent, et le réactif polyvalent pour N. meningitidis réagit avec les antigènes des groupes A, C, Y et W135. L'antigène des N. meningitidis du groupe B est plus difficile à détecter[6] tout en se rapprochant sur le plan structural et immunologique de l'antigène d'E. coli K17 ; ils réagissent tous deux avec le réactif pour N. meningitidis du groupe B.

4. DÉFINITIONS DES SYMBOLES

REF	Référence catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Consulter le mode d'emploi
	Limites de température (temp. de stockage)
Σ N	Contenu suffisant pour <N> tests
LOT	Code de lot (numéro de lot)
	Utiliser avant (date de péremption)
UDI	Identifiant unique du dispositif
EC REP	Représentant autorisé au sein de la Communauté européenne
UK CA	Conformité évaluée au Royaume-Uni
CE	Système européen d'évaluation de la conformité
	Fabricant

5. CONTENU DE LA TROUSSE, PRÉPARATION POUR UTILISATION ET CONSERVATION

La trousse de détection d'antigènes bactériens Wellcogen contient suffisamment de réactifs pour effectuer 30 tests.

Voir également les Précautions, section 6.

Tous les composants doivent être stockés entre 2 et 8° C ; dans ces conditions, ils conserveront leur activité jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Avant utilisation, amener tous les réactifs à température ambiante (18-30° C) et mélanger. Remettre les réactifs inutilisés au réfrigérateur après utilisation.

Notice d'utilisation

Cartes de réaction jetables (2 paquets)
Bâtonnets de mélange jetables (5 paquets)
Compte-gouttes jetables (1 boîte)
Tétine en caoutchouc noire (1)

TEST LATEX **Tests latex**

Strep. B (capuchon rose)

H. influenzae b (capuchon bleu clair)

S. pneumoniae (capuchon jaune)

N. meningitidis ACY W135 (capuchon gris)

N. meningitidis B/E. coli K1 (capuchon marron)

Cinq flacons compte-gouttes, chacun spécifique de l'un des groupes ci-dessus, contenant 0,5 % de suspensions de particules de latex de polystyrène dans un tampon contenant du Bronidox® à 0,05 % et/ou 0,1 % d'azide de sodium comme conservateur. Les particules de latex sont recouvertes de l'anticorps de lapin approprié, conformément à l'étiquetage, sauf concernant le réactif pour N. meningitidis du groupe B/E. coli K1 qui est enrobé d'un anticorps monoclonal murin.

CONTROL LATEX **Latex de contrôle**

Cinq flacons compte-gouttes (capuchon bleu foncé) contenant 0,5 % de suspensions de particules de latex de polystyrène dans un tampon contenant du Bronidox® à 0,05 % et/ou 0,1 % d'azide de sodium comme conservateur. Les particules de latex sont enrobées d'une préparation appropriée de globuline de lapin ou, dans le cas du latex pour N. meningitidis du groupe B/E. coli K1, d'un anticorps monoclonal murin produit contre Bordetella bronchiseptica. Les suspensions de latex sont fournies prêtes à l'emploi et doivent être conservées en position verticale entre 2 et 8° C jusqu'à la date de péremption de la trousse. Après un stockage prolongé, le latex peut légèrement s'agréger ou sécher en haut du flacon. Si cela se produit, le flacon de latex doit être vigoureusement agité pendant quelques secondes jusqu'à ce que la remise en suspension soit effectuée. NE PAS CONGELER.

CONTROL + **Contrôle positif polyvalent**

Deux flacons (capuchon bleu) contenant des extraits bactériens lyophilisés, avec antigènes, de souches représentatives de chacune des espèces de bactéries pour lesquelles le latex est fourni. Contient 0,01 % de bronopol avant reconstitution et 0,004 % une fois la reconstitution effectuée. Reconstituer avec 3,6 ml d'eau distillée stérile. Après ajout de l'eau, laisser la bouteille reposer à la verticale pendant quelques minutes, puis l'agiter par un mouvement de rotation pour mélanger. Stocker l'antigène reconstitué entre 2 et 8° C pour une conservation jusqu'à 6 mois.

CONTROL − **Contrôle négatif**

Un flacon compte-gouttes (capuchon blanc) contenant un tampon glycine salin, pH 8,2, avec du Bronidox® à 0,05 % comme conservateur.

6. PRÉCAUTIONS

IVD

Les réactifs sont exclusivement destinés à une utilisation diagnostique in vitro.

Usage exclusivement réservé à des professionnels.

Se reporter à la fiche de données de sécurité (FDS) et à l'étiquetage du produit pour prendre connaissance des informations relatives aux composants potentiellement dangereux.

ASPECTS SANITAIRES ET DE SÉCURITÉ

6.1 Les latex tests et contrôles pour la détermination des streptocoques du groupe B, de H. influenzae type b, de S. pneumoniae et de N. meningitidis A, C, Y, W135, contiennent 0,1 % d'azide de sodium. Les azides peuvent réagir avec le cuivre et le plomb utilisés dans certains systèmes de canalisations pour former des sels explosifs. Les quantités utilisées dans cette trousse sont faibles ; néanmoins, lors de l'élimination de matériaux contenant des azides, il convient de procéder simultanément à un rinçage à grande eau.

6.2 Conformément aux principes de bonnes pratiques de laboratoire, il est fortement recommandé de traiter les liquides corporels comme potentiellement infectieux et de les manipuler en observant toutes les précautions nécessaires.

6.3 En cas de manipulation d'un milieu d'hémoculture pour analyse radiométrique, les règles élémentaires de protection contre le rayonnement doivent être respectées. Celles-ci comprennent les suivantes :

a) Le matériau radioactif doit être conservé dans une zone réservée, dans un conteneur agréé.

b) Toute manipulation avec radioactivité doit avoir lieu dans une zone réservée.

c) Ne pas pipeter à la bouche un matériau radioactif.

d) Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone réservée.

e) Un lavage de mains soigneux doit être effectué après utilisation d'un matériau radioactif.

f) Le responsable local de la protection contre le rayonnement doit être consulté pour connaître les exigences concernant l'élimination.

6.4 Les instruments non jetables doivent être stérilisés par toute procédure appropriée après utilisation, la méthode de prédilection étant cependant le passage à l'autoclave pendant 15 minutes à 121° C. Les éléments jetables doivent être passés à l'autoclave ou incinérés. Les matériaux potentiellement infectieux qui seraient déversés doivent immédiatement être éliminés avec du papier absorbant, et les zones contaminées doivent être tamponnées avec un désinfectant antibactérien standard ou de l'alcool à 70 %. Ne PAS utiliser d'hypochlorite de sodium. Les matériaux utilisés pour nettoyer les déversements, y compris les gants, doivent être mis au rebut en tant que déchets nocifs pour l'organisme.

6.5 Ne pas pipeter à la bouche. Porter des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et de la réalisation du dosage. Se laver soigneusement les mains lorsque la procédure est terminée.

6.6 Lorsqu'ils sont utilisés conformément aux principes des bonnes pratiques de laboratoire, aux normes à respecter d'hygiène du travail et aux instructions données dans la présente notice d'utilisation, les réactifs fournis ne sont pas considérés comme présentant un danger pour la santé.

PRÉCAUTIONS ANALYTIQUES

6.7 Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée.

6.8 Les réactifs latex doivent être amenés à température ambiante (entre18 et 30° C) avant utilisation. Les réactifs latex qui montrent des signes d'agrégation ou un aspect « granuleux » peuvent avoir subi une congélation et ne doivent absolument pas être utilisés.

6.9 Il est important, lors de l'utilisation des flacons compte-gouttes, de maintenir ceux-ci verticalement et que la goutte se forme à la pointe de la canule. Si la canule est mouillée, il y aura un volume incorrect se formant vers l'extrémité, et non à la pointe ; dans ce cas, sécher la canule avant de continuer.

6.10 Les réactifs fournis avec chaque trousse sont correspondants en termes de performances et ne doivent pas être utilisés avec des réactifs provenant d'une trousse dont le numéro de lot est différent.

6.11 Ne pas toucher les zones de réaction sur les cartes.

6.12 Ce dosage autorise l'utilisation d'agitateurs rotatifs mécaniques. Les caractéristiques suivantes ont été estimées satisfaisantes :

i) Agitateurs rotatifs orbitaux (également dénommés agitateurs rotatifs dimensionnels) fonctionnant à 25 rpm avec un angle de rotation approximatif de 9 à 10,5 degrés, ou fonctionnant à 18 rpm avec un angle de rotation de 16 à 17 degrés.

6.13 Éviter la contamination microbienne des réactifs car celle-ci pourrait donner lieu à des résultats erronés.

7. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

7.1 Les échantillons de le LCR et l'urine doivent être testés le plus rapidement possible après le prélèvement. Si le liquide ne peut pas être immédiatement testé, il peut être conservé jusqu'au lendemain entre 2 et 8° C, ou plus longtemps s'il est conservé congelé entre –15 et –25° C. S'il est nécessaire de soumettre l'échantillon à des analyses bactériologiques, celles-ci doivent être préparées avant d'effectuer le test au latex afin d'éviter une contamination de l'échantillon.

7.2 Les hémocultures peuvent être échantillonnées et testées après 18 à 24 heures d'incubation à 37° C et/ou dès lors qu'une croissance bactérienne est observée.

7.3 Cultures sur boîtes (N. meningitidis B/E. coli K1 uniquement). Les colonies isolées ayant poussé sur un milieu gélosé enrichi (par exemple gélose au sang, gélose chocolat) peuvent être testées après une incubation d'une nuit à 37° C. Une coloration de Gram doit être effectuée pour aider à l'interprétation du résultat du test au latex.

8. PROCÉDURE DE TEST

MATÉRIEL REQUIS FOURNI

Voir le Contenu de la trousse, section 5.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Bain-marie à ébullition

Centrifugeuse de laboratoire ou filtres à membrane (0,45 µm)
Agitateur rotatif (facultatif ; se reporter aux Précautions, section 6)

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS CLINIQUES

8.1 Les échantillons de le LCR et l'urine doivent impérativement être chauffés avant de procéder au test par la procédure Wellcogen, afin de minimiser les réactions non spécifiques[4,6]. Les procédures suivantes sont recommandées :

a) Chauffer l'échantillon pendant 5 minutes dans un bain-marie à ébullition. Laisser refroidir l'échantillon jusqu'à température ambiante (18 à 30° C) et le clarifier par centrifugation ou filtration avec membranes (0,45 µm) avant d'effectuer le test. Pour une sensibilité maximale, les échantillons d'urine peuvent être concentrés jusqu'à 25 fois dans un concentrateur Minicon® B-15. Clarifier comme indiqué ci-dessus avant d'effectuer le test.

8.2 Hémocultures. Centrifuger un échantillon d'1 à 2 ml pour former un culot d'hématies, par exemple à 1000 x g pendant 5 à 10 minutes. Effectuer le test au latex sur le surnageant. S'il se produit une réaction non spécifique avec un surnageant d'hémoculture (voir l'Interprétation des résultats, section 10), chauffer l'échantillon dans un bain-marie à ébullition pendant 5 minutes, le laisser refroidir jusqu'à température ambiante (18 à 30° C), le clarifier par centrifugation et effectuer à nouveau le test.

8.3 Cultures sur boîtes (N. meningitidis B/E. coli K1 uniquement). Effectuer le test directement à partir de la boîte de culture.

PROCÉDURE

Il est conseillé de lire attentivement les Précautions, section 6, avant d'effectuer le test.

Échantillons de liquides corporels et surnageants d'hémocultures:

REMARQUE : si le volume disponible de l'échantillon à tester est limité, l'échantillon doit d'abord être utilisé avec les latex test, et en cas d'obtention d'un résultat positif, il doit être ensuite testé avec le latex de contrôle approprié. Si l'échantillon est d'un volume suffisant, il doit être testé simultanément avec les latex test et contrôle.

Étape 1	Traiter l'échantillon comme décrit dans la section **Préparation des échantillons cliniques.**	
Étape 2	**Agiter les réactifs latex.**	
Étape 3	**Déposer 1 goutte de chaque latex test ou** 1 goutte de latex contrôle dans des cercles différents d'une carte de réaction. S'assurer que les flacons compte-gouttes sont maintenus en position verticale pour verser une goutte précise. (Voir les Précautions, section 6).	**1 goutte**
Étape 4	À l'aide d'un compte-gouttes jetable, verser 1 goutte (environ 40 µl) de l'échantillon à tester à côté de chaque goutte de latex.	**1 goutte**
Étape 5	Mélanger le contenu de chaque cercle avec un bâtonnet de mélange et étaler pour recouvrir la zone entière du cercle. Utiliser un bâtonnet différent pour chaque cercle et le jeter après utilisation de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 6	Bouger la carte en la basculant lentement et observer la formation d'une agglutination pendant 3 minutes, en maintenant la carte à une distance normale de lecture (25 à 35 cm des yeux). Ne pas utiliser de loupe grossissante. Un agitateur rotatif mécanique peut être utilisé pendant 3 minutes (voir les Précautions, section 6). Les résultats obtenus sont clairs et facilement interprétables dans des conditions normales d'éclairage.	**3 min**
Étape 7	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	

Cultures sur boîtes :

(Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 uniquement) :

Étape 1	Agiter les réactifs latex.	
Étape 2	Pour chaque culture à tester, déposer 1 goutte de latex test dans un cercle sur une carte de réaction, et 1 goutte de latex de contrôle dans un autre cercle.REMARQUE : il est indispensable d'utiliser le latex de contrôle pour les cultures suspectées contenir E. coli.	**1 goutte**
Étape 3	Prendre un bâtonnet de mélange et prélever une petite quantité de la culture en la touchant avec l'extrémité aplatie du bâtonnet. À titre indicatif, il convient de prélever une quantité à peu près équivalente à 1 grosse colonie.	**Échantillon**
Étape 4	Émulsionner l'échantillon de culture dans la goutte de latex test en frottant avec l'extrémité aplatie du bâtonnet. Frotter énergiquement, mais pas trop vigoureusement pour ne pas détériorer la surface de la carte. Étaler le latex pour recouvrir le cercle autant que possible. Jeter le bâtonnet de mélange de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 5	Avec un bâtonnet différent, émulsionner un échantillon de culture similaire dans le latex de contrôle.	
Étape 6	Bouger la carte en la basculant lentement et observer la formation d'une agglutination pendant 20 secondes, en maintenant la carte à une distance normale de lecture (25 à 35 cm des yeux). Ne pas utiliser de loupe grossissante. Les résultats obtenus sont clairs et facilement interprétables dans des conditions normales d'éclairage.	**20 s**
Étape 7	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	

9. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les procédures ci-après doivent être effectuées initialement avec chaque livraison de trousses de test et avec chaque série d'échantillons de test. En pratique, une série peut être définie comme étant une période de tests d'une durée allant jusqu'à 24 heures. Tout écart par rapport aux résultats escomptés indique un possible problème au niveau des réactifs, qu'il est impératif de résoudre avant toute utilisation ultérieure avec des échantillons cliniques.

INSPECTION VISUELLE

Il est nécessaire de toujours vérifier l'absence d'agrégation au niveau des suspensions de latex lorsqu'elles sont déposées sur la carte de test ; s'il y a des signes d'agglomération avant l'ajout de l'échantillon de test, la suspension ne doit pas être utilisée. Après un stockage prolongé, le latex peut légèrement s'être agrégé ou avoir séché en haut du flacon. Si ce phénomène se produit, le flacon doit être vigoureusement agité pendant quelques secondes jusqu'à ce que la remise en suspension soit effectuée.

PROCÉDURE DE CONTRÔLE POSITIF

La réactivité du test peut être confirmée en ajoutant un contrôle positif polyvalent dans un cercle de réaction pour lequel l'échantillon de test n'a pas entraîné d'agglutination du latex de test après rotation pendant 3 minutes.

Étape 1	Utiliser un compte-gouttes jetable pour ajouter 1 goutte de contrôle positif dans le cercle contenant le latex de test et l'échantillon	**1 goutte**
Étape 2	Mélanger avec un bâtonnet de mélange et jeter celui-ci de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 3	Bouger la carte en la basculant, manuellement ou avec un agitateur rotatif, pendant 3 minutes supplémentaires. Après cela, une agglutination avérée doit être visible dans le latex test.	**3 min**
Étape 4	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	

PROCÉDURE DE CONTRÔLE NÉGATIF

Si au moins un échantillon de test dans une série donne un résultat négatif avec les latex test et contrôle (ou avec le latex test seul quand aucun latex de contrôle n'a été utilisé), cela constitue un contrôle négatif valide et il n'est pas nécessaire de procéder à d'autres tests.

Si un échantillon de test donne une agglutination avec le latex test et une absence d'agglutination avec le latex contrôle, le latex test doit alors être testé, soit avec le contrôle négatif soit avec un milieu d'hémoculture non inoculé, selon les cas (voir ci-dessous).

Étape 1	Déposer une goutte de latex de test dans un cercle sur une carte de réaction.	**1 goutte**
Étape 2	Verser une goutte de contrôle négatif ou de milieu d'hémoculture non inoculé à côté du latex test.	**1 goutte**
Étape 3	Mélanger avec un bâtonnet de mélange et jeter celui-ci de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 4	Bouger la carte en la basculant, manuellement ou avec un agitateur rotatif, pendant 3 minutes supplémentaires. Après cela, il ne devrait y avoir aucune agglutination significative dans le latex test.	**3 min**
Étape 5	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	

Pour les tests avec des échantillons de échantillons de LCR et d'urine, le contrôle négatif fourni avec la trousse doit être utilisé.

Pour les tests avec des hémocultures, un échantillon de milieu d'hémoculture non inoculé provenant de la même source que l'échantillon doit être utilisé en tant que contrôle négatif. Remarque : le test d'un milieu non inoculé est important car des résultats faussement positifs peuvent être observés avec certaines formulations de milieu d'hémoculture.

Remarques :

a) Des échantillons positifs et négatifs précédemment soumis au dosage, séparés en parties aliquotes et conservés à une température entre –15 et –25° C ou inférieure, peuvent être le cas échéant utilisés en tant que contrôles respectivement positifs et négatifs. Le contrôle positif peut également être utilisé à la place de l'échantillon de test.

b) Pour les tests d'identification de colonies (Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 uniquement), les performances des réactifs latex test et contrôle peuvent être confirmées avec des cultures fraîches, sur une nuit, de souches de référence de bactéries, en appliquant la méthode décrite dans la Procédure de test. Les souches de référence utilisables sont :
ATCC 13090 – N. meningitidis du groupe B (réaction positive)

ATCC 23503 – E. coli type K1 (réaction positive)
ATCC 13077 – N. meningitidis du groupe A (réaction négative)
Les souches ATCC 13090 et ATCC 23503 doivent donner une agglutination avec le latex test et une absence d'agglutination significative dans le latex de contrôle ; ATCC 13077 doit donner une absence d'agglutination significative avec le latex test comme avec le latex de contrôle.

10. RÉSULTATS

LECTURE DES RÉSULTATS

Une réaction positive est indiquée par le développement d'un profil d'agglutination dans les 3 minutes (20 secondes pour le test de détection sur colonies) suivant le mélange du latex et de l'échantillon à tester, avec une agglomération clairement visible des particules de latex (figure 1).

La vitesse à laquelle apparaît l'agglutination et sa qualité dépendent de la puissance de l'antigène ; il peut y avoir de gros agglomérats apparaissant quelques secondes après le mélange comme de petits agglomérats qui se développent plutôt lentement. Pour les identifications sur culture, la plupart des réactions positives sont quasi-instantanées.

Dans une réaction négative, le latex ne s'agglutine pas et l'aspect laiteux reste notablement inchangé tout au long du test (figure 2). Il convient cependant de noter que des traces subtiles de granularité peuvent être détectées dans des profils négatifs, en fonction de l'acuité visuelle de l'opérateur. Dans les identifications sur culture, certaines souches peuvent occasionner une agrégation « filandreuse » du latex sur un fond laiteux ; ce phénomène doit être interprété comme une réaction négative.

REMARQUE : les particules de latex utilisées dans les suspensions de latex test et contrôle Wellcogen pour la détermination de N. meningitidis B/E. coli K1 ne sont pas les mêmes que celles utilisées pour les autres réactifs et donnent une agglutination plus fine.

Figure 1

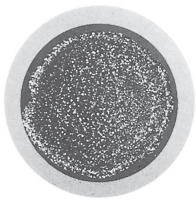
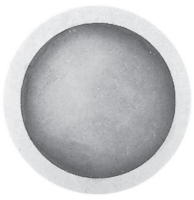


Figure 2



INTERPRETATION DES RESULTATS

Résultat positif

L'agglutination évidente d'un réactif latex test unique, accompagnée de réactions négatives avec tous les autres réactifs latex test et le latex de contrôle témoigne de la présence et de l'identité d'un antigène bactérien dans l'échantillon testé. En règle générale, un résultat positif obtenu avec le test Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 sur un échantillon néonatal évoque une infection à E. coli K1 ; chez les patients plus âgés, la présence de méningocoques du groupe B est plus vraisemblable.

Résultat négatif

Des réactions négatives obtenues avec tous les réactifs latex test indiquent l'absence d'antigènes bactériens à un niveau détectable dans le liquide testé ; elles n'éliminent pas la possibilité d'une infection causée par les organismes en question, et si les symptômes persistent, il peut être souhaitable d'effectuer le test sur des échantillons autres ou prélevés ultérieurement, ou encore après concentration des échantillons d'urine. Avec une culture, l'absence d'agglutination des réactifs Wellcogen pour détermination de N. meningitidis B/E. coli K1 évoque l'improbabilité d'une présence de N. meningitidis du groupe B ou d'E. coli K1.

Résultat non interprétable

Une agglutination observée pour plusieurs réactifs latex test ou des latex test et contrôle correspondants signifie une réaction non spécifique. Dans la plupart des cas, les réactions non spécifiques peuvent être éliminées en chauffant et en clarifiant l'échantillon4 (voir la Préparation des échantillons cliniques, section 8). S'il se produit une réaction non spécifique avec un surnageant d'hémoculture, chauffer l'échantillon dans un bain-marie à ébullition pendant 5 minutes, le laisser refroidir jusqu'à température ambiante (18 à 30° C), le clarifier par centrifugation et effectuer à nouveau le test.

11. LIMITES DE PERFORMANCES

11.1 Pour les liquides corporels de nourrissons (strep. du groupe B uniquement) – Des résultats de test faussement négatifs peuvent être obtenus avec des échantillons contenant des niveaux d'antigène en-deça des limites de détection du dispositif. Des résultats négatifs doivent être suivis par une culture sélective en bouillon. Un résultat positif indique la présence de l'antigène streptococcique groupe B ; le résultat n'indique pas nécessairement la présence d'organismes viables.

11.2 Pour les liquides corporels de nourrissons (streptocoque groupe B uniquement) – L'utilisation de ce dispositif ne doit pas se substituer à la culture microbiologique. Les performances de ce dispositif en matière de prédiction d'une infection à streptocoque du groupe B à partir de tests de l'urine du nourrisson n'ont pas été établies.

11.3 Les infections à streptocoque du groupe B surviennent principalement chez les nouveaux-nés. Il convient de faire preuve de circonspection dans l'interprétation de résultats positifs obtenus avec des échantillons de liquide corporel prélevés chez des patients âgés de plus de six mois. Des résultats positifs obtenus avec des surnageants d'hémoculture provenant de patients de tous âges peuvent être significatifs.

11.4 Pour l'obtention d'un résultat positif au test, il faut la présence de l'antigène à un niveau détectable dans le liquide corporel ou le milieu d'hémoculture.

11.6 Quelques exemples de bactéries sans rapport possédant des antigènes communs ont été rapportés et, comme avec tout système de test immunologique, on ne peut éliminer la possibilité de réactions croisées qui se produiraient avec le test latex[1,3,8,9].

12. RÉSULTATS ESCOMPTÉS

Les échantillons contenant un niveau détectable de l'antigène streptococcique groupe B, de l'antigène de H. influenzae type b, de l'antigène capsulaire de S. pneumoniae, des antigènes de N. meningitidis A, C, Y, W135, ou de l'antigène de N. meningitidis B /E. coli K1 donneront une réaction d'agglutination avec les latex de test appropriés.

13. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

13.1 **Liquides corporels et hémocultures**

Des études cliniques ont été menées dans 15 centres sur des échantillons de liquides corporels (frais et conservés congelés) et sur des surnageants d'hémocultures. Des techniques de culture aussi bien traditionnelles que radiométriques ont été employées dans les études d'hémocultures. Les échantillons conservés de liquides corporels n'ont pas été traités par la chaleur tel que décrit dans la Préparation des échantillons cliniques, section 8. Des tests de laboratoire approfondis ont montré une absence de perte significative d'antigène après un chauffage selon cette procédure.

Sensibilité

La sensibilité de chaque latex de la trousse a été établie à partir de tests d'échantillons de culture positifs pour l'organisme homologue ou pour lesquels existaient d'autres preuves d'infection (diagnostic clinique plus positivité à d'autres tests de détection de l'antigène).

Les tableaux 2 à 6 montrent le nombre d'échantillons de chaque type testés avec les différents latex ainsi que le nombre de résultats positifs obtenus. La sensibilité de chaque latex en matière de détection de l'antigène bactérien dans le LCR a été de 64.3% (9/14) pour le test Wellcogen strep. du groupe B, de 96.3% (78/81) pour le test Wellcogen H. nfluenzae b, de 86.7% (39/45) pour le test Wellcogen S. pneumoniae, de 71 % (29/41) pour le test Wellcogen N. meningitidis A, C, Y, W135 et de 62.5% (10/16) pour le test Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Spécificité

La spécificité de chacun des réactifs Wellcogen a été évaluée en utilisant des échantillons de liquides corporels (frais et congelés) et d'hémocultures provenant de patients qui présentaient une méningite bactérienne ou aseptique et d'autres pathologies sans rapport.

Les organismes isolés dans les échantillons infectés ont été H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis notamment des groupes A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, des streptocoques alphahémolytiques, des streptocoques bêta-hémolytiques du groupe A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii et une bactérie coliforme.
La spécificité de l'ensemble des cinq latex Wellcogen dans des tests du LCR s'est avérée supérieure à 98 %. Les détails concernant le nombre d'échantillons testés et la spécificité de chaque latex Wellcogen pour chaque type d'échantillon apparaissent dans les tableaux 2 à 6.

13.2 Cultures sur boîte (N. meningitidis B/E. coli K1 uniquement). Des cultures de N. meningitidis et E. coli développées sur un milieu gélosé enrichi ont été testées dans des laboratoires hospitaliers et en interne. Toutes les cultures de N. meningitidis du groupe B et d'E. coli K1 ont été correctement identifiées. Il n'y a pas eu de réaction croisée avec des antigènes d'autres groupes de N. meningitidis ni avec d'autres antigènes K d'E. coli (tableau 7). Les cultures d'E. coli avec d'autres antigènes K soumises au test ont donné des réactions non spécifiques en proportion élevée (tableau 7).

Tableau 1

Échantillons ayant été évalués avec des réactifs latex Wellcogen invididuels

Échantillon	Wellcogen				
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis A, C, Y, W135	N. meningitidis B/ E. coli K1
LCR	+	+	+	+	+
Urine	+	–	–	–	–
Hémoculture	+	+	+	+	+
Colonies bactériennes	–	–	–	–	+

Légende

+ Données disponibles en confirmation de cette application.

– Aucune donnée disponible

Tableau 2

Résultats d'études cliniques sur le test de détection Wellcogen strep. B

Échantillon	Sensibilité[a]		Spécificité[b]	
	Nombre testés	Nombre de positifs	Nombre testés	Nombre de positifs
LCR	14	9	34	0
Urine	19	16	18	1[c]
Hémoculture	9	9	369	4[d]

a streptocoque bêta-hémolytique du groupe B isolé/démontré (diagnostic clinique/autre test antigénique.

b Bactéries autres que des streptocoques B/pas de croissance.

c P. mirabilis isolé.

d Staph. epidermidis, strep. bêta-hémolytique du groupe A, E. coli + entérocoque, Staph. epidermidis + entérocoque isolés.

Tableau 3

Résultats d'études cliniques sur le test de détection Wellcogen H. influenzae b

Échantillon	Sensibilité		Spécificité	
	Nombre de testés	Nombre de positifs	Nombre de testés	Nombre de positifs
LCR	81	78	366[a]	2[b]
Hémoculture	54	54	1566[c]	5[d]

a Un échantillon de LCR supplémentaire a donné une réaction non spécifique.

b Un échantillon aseptique ; E. coli isolé dans un autre échantillon.

c Deux surnageants d'hémoculture supplémentaires ont donné des réactions non spécifiques.

d Un échantillon aseptique. Les autres échantillons ont montré des croissances de : Staph. aureus, E. coli + Staph. epidermidis, K. oxytoca, streptocoques alpha-hémolytiques.

Tableau 4

Résultats d'études cliniques sur le test de détection Wellcogen S. pneumoniae

Échantillon	Sensibilité		Spécificité	
	Nombre de testés	Nombre de positifs	Nombre de testés	Nombre de positifs
LCR	45	49	461[a]	2[b]
Hémoculture	113	109	1512	7[c]

a Un échantillon de LCR supplémentaire a donné une réaction non spécifique.

b Enterobacter aerogenes, bactérie coliforme.

c Pseudomonas, Strep. sanguis, Staph. epidermidis + entérocoque, Strep. viridans isolés dans 4 échantillons.

Tableau 5

Résultats d'études cliniques sur le test de détection Wellcogen N. meningitidis A, C, Y, W135

Échantillon	Sensibilité		Spécificité	
	Nombre de testés	Nombre de positifs	Nombre de testés	Nombre de positifs
LCR	41[a]	29	423	2[b]
Hémoculture	7	7	1615	2[c]

a Dont 8 du groupe A, 25 du groupe C et 1 du groupe Y (le reste n'appartenait pas à un groupe).

b K. aerogenes, E. coli.

c Strep. sanguis, Staph. epidermidis + entérocoque.

Tableau 6

Résultats d'études cliniques sur le test de détection Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Échantillon	Sensibilité		Spécificité	
	Nombre de testés	Nombre de positifs	Nombre de testés	Nombre de positifs
LCR				
N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1a	6	4	102	0
Hémoculture				:
N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

a Échantillons conservés congelés. Tous les autres échantillons ont été testés à l'état frais.

b Cultures aérobies et anaérobies (streptocoque bêta-hémolytique du groupe A) pour un même patient ; staphylocoque à coagulase négative.

Tableau 7

Identification de cultures au moyen du test de détection Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Culture[a]	+	–
N. meningitidis du groupe A	0	16
N. meningitidis du groupe B	10	0
N. meningitidis du groupe C	0	18
N. meningitidis du groupe 29E	0	8
N. meningitidis du groupe W135	0	7
N. meningitidis du groupe X	0	4
N. meningitidis du groupe Y	0	5
N. meningitidis du groupe Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – autres antigènes	0	13b

a Cultures identifiées par agglutination sur lames.

b 10 cultures supplémentaires ont donné des réactions non spécifiques.

14. BIBLIOGRAPHIE

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

For technical assistance www.thermofisher.com

X7713E. Révision au janvier 2025

IT

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Wellcogen Bacterial Antigen Kit

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. USO PREVISTO

Wellcogen™ Bacterial Antigen Kit fornisce una serie di test rapidi al lattice per la rilevazione qualitativa degli antigeni di Streptococcus gruppo B, Haemophilus influenzae tipo b, Streptococcus pneumoniae (pneumococco), Neisseria meningitidis (meningococco) gruppi A, B, C, Y o W135 ed Escherichia coli K1, presenti nel fluido cerebrospinale (CSF) e coltura ematica in seguito a un'infezione. Il kit può essere utilizzato anche per i test campioni di urina volti alla rilevazione di antigeni di Streptococcus gruppo B e colture in piastra per N. meningitidis gruppo B o Escherichia coli K1. (Vedere la Tabella 1 per le indicazioni supportate da dati clinici).

NOTA: I test eseguiti direttamente su campioni clinici hanno finalità di screening e dovrebbero accompagnare, non sostituire, le procedure colturali. I risultati devono essere utilizzati in combinazione con altri dati, per es. sintomi, risultati di altri test, impressioni cliniche ecc.

2. SOMMARIO

La meningite ha un'ampia varietà di cause potenziali, di origine sia infettiva sia non infettiva. Se non trattata in maniera tempestiva ed efficace, la meningite batterica può risultare fatale. La precoce identificazione dell'agente infettivo può essere di grande utilità per somministrare al paziente un appropriato trattamento chemioterapico. Nella meningite sono implicate molte specie batteriche. Lo Streptococcus gruppo B ed E. coli K1 sono due delle più comuni cause di sepsi neonatale, mentre nei gruppi di età superiore i più comuni isolati sono H. influenzae tipo b, S. pneumoniae e N. meningitidis gruppi A, B, C, Y e W135. Tali organismi veicolano specifici antigeni di polisaccaridi di superficie, una parte dei quali si diffonde in terreni di coltura o fluidi corporei, come fluido cerebrospinale (CFS) o siero, e sono escreti nell'urina. Gli antigeni possono essere rilevati con metodi immunologici sensibili come controimmuno-elettroforesi e agglutinazione al lattice[2,5,6,10].

3. PRINCIPIO DEL TEST

I reagenti Wellcogen sono costituiti da particelle di lattice di polistirene, rivestite con anticorpi agli antigeni batterici. Tali particelle di lattice agglutinano in presenza di un antigene omologo sufficiente. I reagenti Streptococcus e H. influenzae sono specifici per il gruppo B e il tipo b, rispettivamente, mentre il reagente S. pneumoniae è sensibilizzato con anticorpi purificati da un siero onnivalente e il reagente polivalente N. meningitidis reagisce con i gruppi A, C, Y e gli antigeni W135. L'antigene di N. meningitidis gruppo B è più difficile da rilevare[6], oltre ad essere strutturalmente e immunologicamente correlato all'antigene di E. coli K1[7]; entrambi reagiscono con il reagente N. meningitidis gruppo B.

4. DEFINIZIONI DEI SIMBOLI

REF	Numero di catalogo
IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limiti di temperatura (temp. di conservazione)
Σ N	Contiene materiali sufficienti per <N> test
LOT	Codice del lotto (numero di lotto)
	Utilizzare entro (data di scadenza)
UDI	Identificatore univoco del dispositivo
EC REP	Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea
UK CA	Valutazione di conformità del Regno Unito
CE	Valutazione di conformità per l'Europa
	Produttore

5. CONTENUTO DEL KIT, PREPARAZIONE PER L'USO E CONSERVAZIONE

Wellcogen contiene reagenti in quantità sufficiente per eseguire 30 test.

Vedere anche **Precauzioni**, sezione **6**.

Tutti i componenti dovrebbero essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per mantenere la propria efficacia fino alla data di scadenza del kit.

Prima dell'uso, portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (18 - 30 °C) e miscelarli Rimettere i reagenti non utilizzati in frigorifero dopo l'uso.

Istruzioni per l'uso

Carte reattive monouso (2 confezioni)
Bacchette di miscelazione monouso (5 mazzetti)
Contagocce monouso (1 flacone)
Tettarella in gomma nera (1)

TEST LATEX **Lattici di test**

Strep B (tappo rosa)
H. influenzae b (tappo azzurro)
S. pneumoniae (tappo giallo)
N. meningitidis ACY W135 (tappo grigio)
N. meningitidis B/E. coli K1 (tappo marrone)

Cinque flaconi contagocce, una specifica per ogni gruppo sopra elencato, contenente sospensioni allo 0,5% di particelle di lattice di polistirene in tampone contenente Bronidox® 0,05% e/o sodio azide 0,1% come conservante. Le particelle di lattice sono rivestite con l'anticorpo di coniglio appropriato, come indicato nell'etichetta, a eccezione del reagente N. meningitidis gruppo B/E. coli K1 che è rivestito con anticorpo monoclonale murino.

CONTROL LATEX **Lattici di controllo**

5 flaconi contagocce (tappo blu scuro) contenenti sospensioni allo 0,5% di particelle di lattice di polistirene in tampone conBronidox® 0,05% e sodio azide 0,1% come conservante. Le particelle di lattice sono rivestite con una preparazione appropriata di globulina di coniglio o con un anticorpo monoclonale murino diretto contro Bordetella bronchiseptica nel caso del lattice per N. meningitidis gruppo B/E. coli K1.

Le sospensioni di lattice sono fornite pronte per l'uso e dovrebbero essere conservate a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, in posizione verticale, fino alla data di scadenza del kit. Dopo una prolungata conservazione, possono manifestarsi tracce di aggregazione o essiccazione del lattice attorno all'imboccatura del flacone. In tal caso, è opportuno agitare vigorosamente il flacone di lattice per alcuni secondi fino alla completa risospensione. NON CONGELARE.

CONTROL + **Controllo positivo polivalente**

Due flaconi (tappo blu) contenenti estratti batterici liofilizzati con antigeni di ceppi rappresentativi di ogni specie batterica per cui è fornito il lattice. Contiene bronopol allo 0,01% prima della ricostituzione e allo 0,004% dopo la ricostituzione. Ricostituire utilizzando 3,6 ml di acqua distillata sterile. Dopo l'aggiunta di acqua, lasciare riposare per alcuni minuti quindi ruotare il flacone per miscelarne il contenuto.

Conservare l'antigene ricostituito a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per un periodo fino a 6 mesi.

CONTROL – **Controllo negativo**

Un flacone contagocce (tappo bianco) contenente tampone glicina salino con pH 8,2 e Bronidox® 0,05% come conservante.

6. PRECAUZIONI

IVD

I reagenti sono solo per uso diagnostico in vitro.

Solo per uso professionale.

Fare riferimento alla scheda tecnica di sicurezza dei materiali (MSDS) e all'etichetta del prodotto per informazioni sui componenti potenzialmente pericolosi.

INFORMAZIONI SU SALUTE E SICUREZZA

6.1 I Lattici di Test e di Controllo per Streptococcus gruppo B, H. influenzae tipo b, S. pneumoniae e N. meningitidis ACY W135, contengono sodio azide 0,1%. Gli azidi possono reagire con il rame e il piombo utilizzati negli impianti idraulici, formando sali esplosivi. Le quantità utilizzate in questo kit sono ridotte; tuttavia, dopo lo smaltimento di materiali contenenti azide, è opportuno lavare gli scarichi con un'abbondante quantità d'acqua.

6.2 In conformità ai principi delle Buone prassi di laboratorio, si raccomanda di trattare i fluidi corporei come potenzialmente infettivi e di maneggiarli con tutte le necessarie precauzioni.

6.3 Nella manipolazione del terreno di coltura ematico con metodo radiometrico, è opportuno seguire le regole di base per la sicurezza delle radiazioni. Tali regole comprendono quanto segue:

a) Conservare il materiale radioattivo in un'area designata all'interno di un contenitore approvato.
b) Maneggiare il materiale radioattivo in un'area designata.
c) Non pipettare con la bocca il materiale radioattivo.
d) Non mangiare, bere o fumare nell'area designata.
e) Lavare con cura le mani dopo l'uso di materiale radioattivo.
f) Per lo smaltimento, consultare il funzionario locale addetto alla sicurezza delle radiazioni.

6.4 Dopo l'uso, sterilizzare le attrezzature non monouso con qualunque procedura appropriata, anche se il metodo preferibile è la sterilizzazione in autoclave per 15 minuti a 121°C. I prodotti monouso dovrebbero essere sterilizzati in autoclave o inceneriti. Eventuali fuoriuscite di materiali potenzialmente infettivi dovrebbero essere rimosse immediatamente con carta assorbente, asciugando e trattando le aree contaminate con un disinfettante batterico standard o con alcool al 70%. NON utilizzare ipoclorito di sodio. I materiali utilizzati per pulire eventuali fuoriuscite di materiali, compresi i guanti, dovrebbero essere smaltiti come rifiuti a rischio biologico.

6.5 Non pipettare con la bocca. Indossare guanti monouso e protezioni oculari quando si maneggiano campioni e si eseguono i test. Lavare con cura le mani al termine delle procedure.

6.6 Se utilizzati in conformità ai principi delle buona prassi di laboratorio, ai corretti standard di igiene del lavoro e alle indicazioni fornite nelle presenti Istruzioni per l'uso, i reagenti forniti non sono considerati presentare un pericolo per la salute.

PRECAUZIONI ANALITICHE

6.7 Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata.

6.8 I reagenti al lattice dovrebbero essere portati a temperatura ambiente (da 18 a 30 °C) prima dell'uso. I reagenti al lattice che mostrano tracce di aggregazione o agglutinazione prima dell'uso potrebbero essersi congelati e non devono essere utilizzati.

6.9 Quando si utilizzano i flaconi contagocce, è importante mantenerli in posizione verticale per consentire la corretta formazione della goccia sulla punta del beccuccio. Se il beccuccio si bagna prima che arrivi la goccia, si rischia di dispensare gocce di volume inappropriato formatesi attorno al bordo anziché sulla punta. In tal caso, è necessario asciugare il beccuccio prima di procedere.

6.10 I reagenti forniti con ogni kit sono combinati tra loro in maniera specifica e non dovrebbero essere utilizzati con reagenti appartenenti a kit di lotti diversi.

6.11 Non toccare le superfici reattive delle carte.

6.12 Possono essere anche utilizzati rotatori meccanici per questo test. A tal fine, si considerano appropriate le seguenti caratteristiche:

i) Rotatori orbitali (noti anche come rotatori dimensionali) funzionanti a 25 rpm con angolo di rotazione approssimativo compreso tra 9 e 10,5 gradi o funzionanti a 18 giri/min con angolo di rotazionecompreso tra 16 e 17,5 gradi.

6.13 6.13 Impedire eventuali contaminazioni microbiche dei reagenti che

6.14 potrebbero determinare risultati erronei.

7. PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

7.1 I **campioni di CSF e urina** dovrebbero essere sottoposti a test nel più breve tempo possibile dopo il prelievo. Se il fluido non può essere sottoposto a test immediatamente, è possibile conservarlo per una notte a temperatura compresa tra 2 e 8 °C o per periodi più lunghi congelandolo a temperatura da –15 a –25 °C. Se sono richieste analisi batteriologiche sul campione, queste dovrebbero essere attuate prima di eseguire il test al lattice per impedire eventuali contaminazioni del campione.

7.2 Le **colture ematiche** possono essere sottoposte a prelievo di campioni e testate dopo incubazione da 18 a 24 ore a 37 °C e/o non appena si osserva crescita batterica.

7.3 **Colture in piastra** (solo N. meningitidis B/E. coli K1). Le colonie isolate cresciute su terreno agar arricchito (per es. agar-sangue, agar-cioccolato) possono essere sottoposte a test dopo incubazione per una notte a 37 °C. Può essre effettuata una colorazione di Gram per facilitare l'interpretazione del risultato del test al lattice.

8. PROCEDURA DI TEST

MATERIALI NECESSARI INCLUSI NEL KIT

Vedere **Contenuto del kit**, sezione **5**.

MATERIALI NECESSARI NON INCLUSI NEL KIT

Bagno d'acqua in ebollizione

Filtri a membrana o centrifuga da laboratorio (0,45 µm)

Rotatore (opzionale – vedere **Precauzioni**, sezione **6**)

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI CLINICI

8.1 **I campioni di CSF e urina** devono essere riscaldati prima dell'esecuzione del test mediante la procedura Wellcogen per ridurre al minimo le reazioni aspecifiche[4,6]. Si raccomandano le procedure seguenti:

a) Riscaldare il campione per 5 minuti in un bagno d'acqua in ebollizione. Raffreddare il campione a temperatura ambiente (da 18 a 30 °C) e chiarificare mediante filtrazione a membrana o centrifugazione (0.45 µm) prima di eseguire il test. Per la massima sensibilità, i campioni di urina possono essere concentrati fino a 25 volte in un concentratore Minicon® B-15. Chiarificare come sopra descritto prima del test.

8.2 **Colture ematiche**. Centrifugare un campione di 1-2 ml per ottenere un pellet di eritrociti, per esempio a 1000 g per 5-10 minuti. Eseguire il test al lattice sul supernatante. Se si verifica una reazione aspecifica con un supernatante di coltura ematica (vedere Interpretazione dei Risultati, sezione 10), riscaldare il campione in un bagno d'acqua in ebollizione per 5 minuti, raffreddare a temperatura ambiente (da 18 a 30 °C), chiarificare mediante centrifugazione e ripetere il test.

8.3 **Colture in piastra** (solo N. meningitidis B/E. coli K1). Eseguire il test direttamente dalla piastra di coltura.

PROCEDURA

Si raccomanda di leggere attentamente la sezione **6 Precauzioni** prima di eseguire il test.

Campioni di fluidi corporei e Supernatanti di coltura ematica:

NOTA: Se è disponibile soltanto un volume di campione di test limitato, si consiglia di utilizzarlo inizialmente con i Lattici di Test e in caso di risultato positivo di sottoporre a test il campione con il Lattice di Controllo appropriato. Se è disponibile un campione sufficiente, s consiglia di sottoporlo a test con i Lattici di Test e di Controllo simultaneamente.

Fase 1	Processare il campione come descritto in **Preparazione dei campioni clinici.**	
Fase 2	Agitare i reagenti al lattice.	
Fase 3	Versare 1 goccia di ogni **Lattice di Test** o **Lattice di Controllo** in un cerchio separato su una carta reattiva. Assicurarsi di mantenere i flaconi contagocce in posizione verticale per dispensare una goccia di volume appropriato. (Vedere **Precauzioni**, sezione **6**).	**1 goccia**
Fase 4	Utilizzando un flacone contagocce monouso, dispensare 1 goccia (circa 40 µl) di **Campione di Test** accanto a ogni goccia di lattice.	**1 goccia**
Fase 5	**Miscelare** il contenuto di ogni cerchio con una bacchetta di miscelazione e spanderlo in modo da coprire l'intera superficie del cerchio. Utilizzare una bacchetta separata per ogni cerchio e scartarla dopo l'uso per lo smaltimento appropriato..	
Fase 6	**Scuotere** lentamente la carta e **osservare** se vi sono tracce di agglutinazione per 3 minuti, tenendo la carta a una distanza di lettura normale (25 - 35 cm) dagli occhi. Non usare una lente di ingrandimento. Può essere utilizzata anche la rotazione meccanica (3 minuti) (Vedere **Precauzioni**, sezione **6**). I pattern ottenuti sono netti e chiaramente riconoscibili in tutte le normali condizioni di illuminazione.	**3 min**
Fase 7	Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.	

Coltura in piastra:
(solo Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1):

Fase 1	Agitare i reagenti al lattice.	
Fase 2	Per ogni coltura da sottoporre a test, deporre 1 goccia di **Lattice di Test** in un cerchio su una carta reattiva e 1 goccia di **Lattice di Controllo** in un cerchio separato. NOTA: è essenziale utilizzare il **Lattice di Controllo** per le colture di E. coli sospette.	**1 goccia**
Fase 3	Con una bacchetta di miscelazione, prelevare una parte della coltura con l'estremità piatta della bacchetta. Come indicazione, dovrebbe essere prelevata una quantità dalla coltura più o meno equivalente a 1 grossa colonia.	**Campione**
Fase 4	**Emulsionare** il campione della coltura nella goccia del **Lattice di Test** strofinando con la punta piatta della bacchetta. Strofinare con decisione ma non con eccessivo vigore per non danneggiare la superficie della carta reattiva. Spandere il lattice in modo da coprire quanto più possibile la superficie del cerchio. Scartare la bacchette di miscelazione per lo smaltimento appropriato.	
Fase 5	Utilizzando una bacchetta separata, **emulsionare** un analogo campione della coltura nel **Lattice di Controllo.**	
Fase 6	**Scuotere** lentamente la carta e **osservare** se vi sono tracce di agglutinazione per 20 secondi, tenendo la carta alla normale distanza di lettura (25 - 35 cm) dagli occhi. Non usare una lente di ingrandimento. I pattern ottenuti sono netti e facilmente riconoscibili in tutte le normali condizioni di illuminazione.	**20 sec**
Fase 7	Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.	

9. CONTROLLO DI QUALITÀ

Le seguenti procedure dovrebbero essere eseguite inizialmente con ogni lotto di spedizione dei kit di test e con ogni serie di campioni di test. Una serie può essere in pratica definita come un periodo di test di durata fino a 24 ore. Qualunque deviazione dai risultati attesi indica che può esservi un problema con i reagenti che deve essere risolto prima del successivo utilizzo con i campioni clinici.

ISPEZIONE VISIVA

Le sospensioni di lattice dovrebbero sempre essere ispezionate per rilevare eventuali tracce di aggregazione quando si dispensano sulla carta reattiva. Se vi è traccia di agglutinazione prima dell'aggiunta del campione di test, la sospensione non deve essere utilizzata.

Dopo una prolungata conservazione, possono manifestarsi tracce di aggregazione o essiccazione del lattice attorno all'imboccatura del flacone. In tal caso, occorre agitare vigorosamente il flacone per alcuni secondi fino alla completa risospensione.

PROCEDURA CON CONTROLLO POSITIVO

La reattività del test può essere confermata aggiungendo un Controllo Positivo Polivalente in un cerchio di reazione in cui il campione di test non ha agglutinato il Lattice di Test dopo rotazione per 3 minuti.

Fase 1	Utilizzando un contagocce monouso, aggiungere 1 goccia di Controllo Positivo nel cerchio contenente il Lattice di Test e il campione.	**1 goccia**
Fase 2	Miscelare utilizzando una bacchetta di miscelazione e scartarla dopo l'uso per lo smaltimento appropriato.	
Fase 3	Scuotere la carta manualmente o mediante un rotatore per altri 3 minuti. Dopo questo tempo, dovrebbe essere visibile una netta agglutinazione nel Lattice di Test.	**3 min**
Fase 4	Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.	

PROCEDURA CON CONTROLLO NEGATIVO

Se almeno un campione di test di una serie fornisce un risultato negativo con i Lattici di Test e di Controllo (o solo Lattice di Test senza Lattice di Controllo), questo costituisce un controllo negativo valido per i reagenti e non sono necessari ulteriori test.

Se un campione di test mostra agglutinazione con il Lattice di Test e nessuna agglutinazione con il Lattice di Controllo, è consigliabile testare il Lattice di Test con il Controllo Negativo o con terreno di coltura ematica non inoculato, come opportuno (vedere di seguito).

Fase 1	Deporre una goccia di Lattice di Test in un cerchio su una Carta Reattiva.	**1 goccia**
Fase 2	Dispensare una goccia di Controllo Negativo o terreno di coltura ematica non inoculato accanto al Lattice di Test.	**1 goccia**
Fase 3	Miscelare utilizzando una bacchetta di miscelazione e scartarla dopo l'uso per lo smaltimento appropriato.	
Fase 4	Scuotere la carta manualmente o mediante un rotatore per altri 3 minuti. Dopo questo tempo, non dovrebbe esservi una significativa agglutinazione nel Lattice di Test.	**3 min**
Fase 5	Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.	

Per i test con campioni I CSF e urina, dovrebbe essere utilizzato il Controllo Negativo fornito nel kit.

Per i test con colture ematiche, dovrebbe essere utilizzato come controllo negativo un campione di terreno di coltura ematica non inoculato della stessa origine del campione. Nota: è importante effettuare il test su terreni non inoculati, poiché potrebbero prodursi falsi positivi con alcune formulazioni di terreni di coltura ematici.

Nota:

a) Come controlli positivi e negativi, possono essere eventualmente utilizzati campioni positivi e negativi già sottoposti a test precedentemente, opportunamente aliquotati e conservati a temperatura compresa tra –15 e –25 °C o inferiore. Il Controllo Positivo può essere anche utilizzato al posto del campione di test.

b) Per i test di identificazione su colonie (solo Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1), le prestazioni dei reagenti al Lattice di Test e di Controllo possono essere confermate utilizzando colture fresche di ceppi batterici di riferimento, cresciute dopo una notte di incubazione, seguendo il metodo descritto nella sezione Procedura di Test. Sono ceppi di riferimento idonei:

ATCC 13090 – N. meningitidis gruppo B (reattività positiva)

ATCC 23503 – E. coli tipo K1 (reattività positiva)

ATCC 13077 – N. meningitidis gruppo A (reattività negativa)

ATCC 13090 e ATCC 23503 dovrebbero dare agglutinazione con il Lattice di Test e nessuna significativa agglutinazione nel Lattice di Controllo, ATCC 13077 non dovrebbe dare nessuna significativa agglutinazione con il Lattice di Test o di Controllo.

10. RISULTATI

LETTURA DEI RISULTATI

Una reazione **positiva** è indicata dallo sviluppo di un pattern agglutinato entro 3 minuti (20 secondi per i test su colonie) dalla miscelazione del lattice con il campione di test, mostrando un'agglutinazione di particelle di lattice chiaramente visibile (Figura 1).

La velocità di comparsa e la qualità dell'agglutinazione dipende dalla resistenza dell'antigene, variabile da grandi agglomerati che compaiono entro pochi secondi dalla miscelazione a piccoli agglomerati che si sviluppano piuttosto lentamente. Nell'identificazione della coltura, le reazioni più positive sono pressoché istantanee.

In una reazione **negativa**, il lattice non agglutina e l'aspetto lattiginoso rimane sostanzialmente invariato per tutto il test (Figura 2). Va tuttavia osservato che si possono rilevare deboli tracce di granularità nei pattern negativi, a seconda dell'acutezza visiva dell'operatore.

Nell'identificazione della coltura, alcuni ceppi possono dare origine a un'aggregazione "filamentosa" del lattice su un fondo

lattiginoso; questo dovrebbero essere interpretato come una reazione negativa.

NOTA: Le particelle di lattice utilizzate nelle sospensioni di Lattice di Test e di Controllo Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 non sono le stesse utilizzate per gli altri reagenti e forniscono un'agglutinazione più fine.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato Positivo

Una chiara agglutinazione di un singolo Lattice di Test accompagnata da reazioni negative con tutti gli altri reagenti al Lattice di Test e al Lattice di Controllo indica la presenza e l'identità di un antigene batterico nel campione di test. Come regola generale, un risultato positivo con Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 su un campione neonatale suggerisce un'infezione da E. coli K1, mentre in pazienti di età superiore è più probabile un'infezione meningococcica di gruppo B.

Risultato Negativo

Reazioni negative con tutti i reagenti al Lattice di Test indicano l'assenza di un livello rilevabile di antigeni batterici nel fluido di test, ma non escludono la possibilità di un'infezione causata da tali organismi e, se i sintomi persistono, può essere auspicabile eseguire il test su campioni successivi o alternativi o dopo concentrazione del campione di urina.

In una coltura, l'assenza di agglutinazione nei reagenti Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 indica che è improbabile che si tratti di N. meningitidis gruppo B o E. coli K1.

Risultato non interpretabile

L'agglutinazione di più reagenti al Lattice di Test o corrispondenti Lattici di Test e di Controllo indica una reazione aspecifica. Nella maggior parte dei casi, le reazioni aspecifiche con fluidi

Figura 1

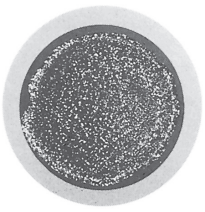
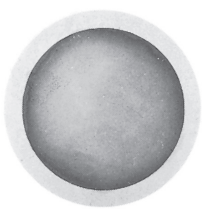


Figura 2



corporei possono essere eliminate mediante riscaldamento e chiarificazione del campione4 (vedere Preparazione dei Campioni Clinici, sezione 8). Se si verifica una reazione aspecifica con un supernatante di coltura ematica, riscaldare il campione in un bagno d'acqua in ebollizione per 5 minuti, raffreddare a temperatura ambiente (da 18 a 30 °C), chiarificare mediante centrifugazione e ripetere il test.

11. LIMITI DI PERFORMANCE

11.1 Per fluidi corporei in età infantile (solo streptococco di Gruppo B) – Possono prodursi risultati di test falsi-negativi con campioni contenenti livelli di antigeni al disotto dei limiti di rilevazione di questo dispositivo. I risultati negativi dovrebbero essere verificati mediante coltura in brodo selettivo. Un risultato positivo indica la presenza di antigene streptococcico di Gruppo B; il risultato non necessariamente indica la presenza di organismi vitali.

11.2 Per fluidi corporei in età infantile (solo streptococco di Gruppo B) – L'uso di questo dispositivo non dovrebbe sostituire la coltura microbiologica. L'efficacia di questo dispositivo per la predizione della malattia da Streptococco di Gruppo B dai test di urina in età infantile non è stata stabilita.

11.3 Le infezioni da streptococco di Gruppo B si manifestano principalmente nei neonati. I risultati positivi ottenuti con campioni di fluidi corporei da pazienti di età superiore a sei mesi dovrebbero essere interpretati con cautela. I risultati positivi ottenuti con supernatanti di coltura ematica da pazienti di qualunque età possono essere significativi.

11.4 Un risultato positivo nel test dipende dalla presenza di un livello rilevabile di antigene nel fluido corporeo o nel terreno di coltura ematica.

11.5 Sono stati riferiti alcuni esempi di batteri non correlati che possiedono antigeni comuni e, come per qualunque sistema di test immunologico, non può essere esclusa la possibilità di reazioni crociate emergenti dal test al lattice[1,3,8,9].

12. RISULTATI ATTESI

I campioni contenenti un livello rilevabile dell'antigene streptococcico di gruppo B, dell'antigene H. influenzae tipo b, dell'antigene capsulare S. pneumoniae, degli antigeni N. meningitidis A, C, Y, W135 o dell'antigene N. meningitidis B / E. coli K1, forniranno una reazione di agglutinazione con il Lattice di Test appropriato.

13. CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

13.1 Fluidi corporei e Colture ematiche

Sono stati effettuati studi clinici presso 15 centri utilizzando campioni di fluidi corporei (freschi e conservati refrigerati) e supernatanti in coltura ematica. Negli studi su colture ematiche, sono state impiegate entrambe le tecniche colturale tradizionale e radiometrica. I campioni di fluido corporeo conservati non sono stati sottoposti a trattamento termico come descritto in Preparazione dei Campioni Clinici, sezione 8. Estesi test di laboratorio non hanno mostrato una significativa perdita dell'antigene dopo il riscaldamento con questa procedura.

Sensibilità

La sensibilità di ogni lattice del kit è stata stabilita da test su colture di campioni positivi per l'organismo omologo o per i quali vi erano altre evidenze di infezione (diagnosi clinica più altro test dell'antigene positivo).

Le Tabelle da 2 a 6 mostrano il numero di campioni per tipo sottoposti a test con i singoli lattici, unitamente al numero di risultati positivi ottenuti. La sensibilità di ogni lattice nel rilevamento dell'antigene batterico nel fluido cerebrospinale (CSF) è stata pari al 64.3% (9/14) per Wellcogen Strep B, 96.3% (78/81) per Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45) per Wellcogen S. pneumoniae, 71% (29/41) per Wellcogen N. meningitidis ACY W135 e 62.5% (10/16) per Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Specificità

La specificità di ognuno dei reagenti Wellcogen è stata valutata utilizzando campioni di fluido corporeo (fresco e refrigerato) e campioni di coltura ematica prelevati da pazienti con meningite batterica o asettica e altre condizioni non correlate.

Gli organismi isolati dai campioni infetti erano H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis inclusi i gruppi A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, streptococco alfaemolitico, streptococco beta-emolitico di gruppo A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii e un batterio coliforme.

La specificità di tutti i cinque lattici Wellcogen nei test sul fluido cerebrospinale è stata maggiore del 98%. I dettagli relativi al numero di campioni sottoposti a test e la specificità di ogni Wellcogen con ogni tipo di campione sono indicati nei prospetti da 2 a 6.

13.2 Colture in piastra (N. meningitidis B/E. coli K1).

Le colture di N. meningitidis e E. coli cresciute su un terreno agar arricchito sono state sottoposte a test presso laboratori ospedalieri e in azienda. Tutte le colture di N. meningitidis gruppo B e E. coli K1 sono state correttamente identificate. Non sono emerse reazioni crociate con altri gruppi di N. meningitidis o altri antigeni di E. coli K (Tabella 7). Un'elevata proporzione delle colture di E. coli con altri antigeni K che sono state sottoposte a test hanno fornito reazioni aspecifiche (Tabella 7).

Tabella 1

Campioni valutati con singoli reagenti al lattice Wellcogen

	Campione		Wellcogen		
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/E. coli K1
Fluido cerebrospinale	+	+	+	+	+
Urina	+	–	–	–	–
Coltura ematica	+	+	+	+	+
Colonie batteriche	–	–	–	–	+

Legenda
+ Dati disponibili a supporto di questa applicazione.
– Nessun dato disponibile.

Tabella 2

Risultati di studi clinici su Wellcogen Strep B

	Sensibilità[a]		Specificità[b]	
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi
Fluido cerebrospinale	14	9	34	0
Urina	19	16	18	1[c]
Coltura ematica	9	9	369	4[d]

[a] streptococco beta-emolitico di gruppo B isolato/indicato (diagnosi clinica/altro test dell'antigene).
[b] Batteri diversi da Strep. B/nessuna crescita.
[c] P. mirabilis isolato.
[d] Staph. epidermidis; strep. beta-emolitico di gruppo A; E. coli + Enterococcus; Staph. epidermidis + Enterococcus isolato.

Tabella 3

Risultati di studi clinici su Wellcogen H. influenzae b

	Sensitività		Specificità	
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi
Fluido cerebrospinale	81	78	366[a]	2[b]
Coltura ematica	54	54	1566[c]	5[d]

[a] Un solo campione di fluido cerebrospinale aggiuntivo ha fornito una reazione aspecifica.
[b] Un solo campione asettico; E. coli isolato da un altro campione.
[c] Due supernatanti da coltura ematica aggiuntivi hanno fornito reazioni aspecifiche.
[d] Un solo campione asettico. Altri campioni hanno evidenziato: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; streptococcus alfaemolitico.

Tabella 4

Risultati di studi clinici su Wellcogen S. pneumoniae

	Sensibilità		Specificità	
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi
Fluido cerebrospinale	45	39	466[a]	2[b]
Coltura ematica	113	109	1512	7[c]

[a] Un solo campione di fluido cerebrospinale aggiuntivo ha fornito una reazione aspecifica.
[b] Enterobacter aerogenes; batterio coliforme.
[c] Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus; Strep. viridans isolato da 4 campioni.

Tabella 5

Risultati di studi clinici su Wellcogen N. meningitidis ACY W135

	Sensibilità		Specificità	
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi
Fluido cerebrospinale	41[a]	29	423	2[b]
Coltura ematica	7	7	1615	2[c]

[a] Comprende 8 di gruppo A, 25 di gruppo C e 1 di gruppo Y (i restanti non erano in gruppi).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus.

Tabella 6

Risultati di studi clinici su Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

	Sensibilità		Specificità	
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi
Fluido cerebrospinale				
N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Coltura ematica:				
N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

a Campioni conservati refrigerati. Tutti gli altri campioni di test erano freschi.
b Colture aerobiche e anaerobiche (strep A beta-emolitico) per lo stesso paziente; staphylococcus coagulasi-negativo.

Tabella 7

Identificazione delle colture utilizzando Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Coltura[a]	+	–
N. meningitidis gruppo A	0	16
N. meningitidis gruppo B	10	0
N. meningitidis gruppo C	0	18
N. meningitidis gruppo 29E	0	8
N. meningitidis gruppo W135	0	7
N. meningitidis gruppo X	0	4
N. meningitidis gruppo Y	0	5
N. meningitidis gruppo Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – altri antigeni	0	13[b]

[a] Colture identificate mediante agglutinazione su vetrino.
[b] 10 colture aggiuntive hanno fornito reazioni aspecifiche.

14. BIBLIOGRAFIA

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

Per assistenza tecnica, www.thermofisher.com

Istruzioni per l'uso X7713E, Revisione Gennaio 2025

NO

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 | US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 | ROW +31 20 794 7071

Wellcogen Bakterielt antigen-kit

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. TILTENKT BRUK

Wellcogen™ Bakterielt antigen-kit tilbyr en rekke raske latekstester for bruk i kvalitativ deteksjon av antigen fra gruppe B-streptokokker, Haemophilus influenzae type b, Streptococcus pneumoniae (pneumokokker), Neisseria meningitidis (meningokokker) grupper A, B, C, Y eller W135 og Escherichia coli K1 som finnes i cerebrospinalvæske (CSF) og blodkulturer som en konsekvens av infeksjon. Kitet kan også brukes for å teste prøver av urin for de fantigen fra gruppe B-streptokokker og platekulturene for N. meningitidis gruppe B eller Escherichia coli K1. (Se tabell 1 for indikasjoner støttet av kliniske data).

MERK: Tester som utføres direkte på kliniske prøver er beregnet for screeningformål og skal forsterke, ikke erstatte, kulturprosedyrer. Resultater må brukes i forbindelse med andre data, f.eks. symptomer, resultater av andre tester, klinisk inntrykk osv.

2. SAMMENDRAG

Meningitis har en lang rekke mulige årsaker, både smittsomme og ikkesmittsomme. Dersom bakteriell meningitis ikke behandles omgående og effektivt, kan sykdommen være fatal. Tidlig identifikasjon av agensen som forårsaker infeksjonen kan være av betydelig verdi når man skal gi pasienten riktig og adekvat kjemoterapi. Mange bakterietyper har vært implisert i meningitis. Gruppe B-streptokokker og E. coli K1 er to av de vanligste årsakene til neonatal sepsis, mens de vanligste isolatene er H. influenzae type b, S. pneumoniae og N. meningitidis grupper A, B, C, Y og W135 i de eldre aldersgruppene. Disse organismene bærer spesifikke polysakkaride overflateantigener, hvorav en viss mengde fordeler seg i kulturmedier eller kroppsvæsker, som f.eks. CSF (spinalvæske) eller serum, og som utskilles i urinen. Antigenene kan detekteres av sensitive immunologiske metoder, som antiimmunoelektroforese og lateksagglutinasjon[2,5,6,10].

3. TESTENS PRINSIPP

Wellcogen-reagensene består av polystyrene latekspartikler som er belagt med antistoffer til de bakterielle antigenene. Disse latekspartiklene agglutinerer i nærvær av tilstrekkelig homolog antigen. Streptokokk- og H. influenzae-reagentene er henholdsvis spesifikke gruppe B og type b, S. pneumoniae-reagenset er sensitisert med antistoffer renset fra et omnivalent serum, og den polyvalente N. meningitidis-reagenset reagerer med de antigene gruppene A, C, Y og W135. Meningokokker gruppe B-antigenet er både litt vanskeligere å detektere[6] og samtidig strukturelt og immunologisk relatert til E. coli K1-antigenet[7]. Begge disse reagerer med N. meningitidis gruppe B-reagenten.

4. SYMBOLDEFINISJONER

REF	Katalognummer
IVD	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
LOT	Batch-kode (partinummer)
	Se bruksanvisningen (IFU)
	Temperaturbegrensninger (oppbevaringstemp.)
Σ N	Inneholder tilstrekkelig til <N> tester
	Brukes før (utløpsdato)
	Importør
EC REP	Autorisert representant i EU
UK CA	Storbritannias samsvarsmerke
	Produsent

5. INNHOLD I KITET, KLARGJØRING FØR BRUK OG OPPBEVARING

Wellcogen Bakterielt antigen-kit inneholder tilstrekkelige reagenser til å utføre 30 tester.

Se også **Sikkerhetsregler**, seksjon **6**.

Alle komponentene skal oppbevares mellom 2 og 8°C. Under disse betingelsene vil de bevare sin aktivitet til settets utløpsdato.

Før bruk, bring alle reagensene til romtemperatur (18 - 30°C), og bland. Sett ubrukte reagenser tilbake i kjøleskapet etter bruk.

Bruksanvisning

Reaksjonskort til engangsbruk (2 pakker)
Blandepinner til engangsbruk (5 bunter)
Pipetter til engangsbruk (1 beholder)
Svart gummitut (1)

TEST LATEX **Testlatex**

Strep B (rosa hette)
H. influenzae b (lyseblå hette)
S. pneumoniae (gul hette)
N. meningitidis ACY W135 (grå hette)
N. meningitidis B/E. coli K1 (brun hette)

Fem pipetteflasker, en spesifikk for hver av gruppene over, som inneholder 0,5% suspensjoner av polystyrene Latexpartikler i buffer som inneholder 0,05% Bronidox® og/eller 0,1% natriumazid som konserveringsmiddel. Latexpartiklene er belagt med passende kanin antistoff, som merket, unntatt for N. meningitidis gruppe B/ E. coli K1-reagenten, som er belagt med murin monoklonal antistoff.

CONTROL LATEX **Kontroll-latex**

5 pipetteflasker (mørkeblå hette), som inneholder 0,5% suspensjoner av polystyrene latexpartikler i buffer som inneholder 0,05% Bronidox® og/eller 0,1% natriumazid som konserveringsmiddel. Latekspartiklene er belagt med et passende preparat av kanin globulin eller når det gjelder N. meningitidis gruppe B/E. coli K1-lateks, et murin monoklonal antistoff dyrket mot Bordetella bronchiseptica.

Latexsuspensjonene leveres klare til bruk og må oppbevares mellom 2 og 8°C i stående stilling, til kittets utløpsdato. Etter lengre tids oppbevaring kan det oppstå aggregasjon eller tørking av latexen rundt flaskens topp. Dersom dette skjer, må flasken med latex omrystes kraftig i et par sekunder til resuspensjonen er fullstendig. MÅ IKKE FRYSES.

CONTROL + **Polyvalent positiv kontroll**

To flasker (blå hette) med frysetørrede bakterielle ekstrakter som inneholder antigener fra representative stammer av hver bakterietype som lateksen er levert for. Inneholder 0,01% bronopol før rekonstitusjon og 0,004% når rekonstitutert. Rekonstituter med 3,6 ml sterilt destillert vann.

La flasken stå i noen få minutter etter at vannet er tilsatt, og roter for å blande. Oppbevar rekonstitutert antigen mellom 2 og 8°C i opptil 6 måneder.

CONTROL – **Negativ kontroll**

En pipetteflaske (hvit hette) som inneholder glycin saltbuffer, pH 8,2, med 0,05% Bronidox® som konserveringsmiddel.

6. FORSIKTIGHETSREGLER

IVD

Reagensene er kun for bruk ved in vitro diagnostikk.

Kun for profesjonelt bruk.

Vennligst referer til MSDS-sikkerhetsdatablad (Material Safety Data Sheet) og produktets merking for informasjon om potensielt farlige komponenter.

INFORMASJON OM SIKKERHET OG HELSE

6.1 Test- og kontroll-latex for gruppe B-streptokokker, H. influenzae type b, S. pneumoniae og N. meningitidis ACY W135 inneholder 0,1% natriumazid. Azider kan reagere med kobber og bly som brukes i noen avløpssystemer og danne eksplosive salter. Mengdene som brukes i dette settet er lave, men likevel skal materialer som inneholder azider skylles bort med store mengder vann når de helles ut.

6.2 I samsvar med prinsippene for god laboratoriepraksis (GLP) anbefales det på det sterkeste at kroppsvæsker blir behandlet som potensielt smittefarlige og at de håndteres med alle nødvendige forholdsregler.

6.3 Ved håndtering av radiometrisk blodkulturmedium skal de grunnleggende reglene for strålingssikkerhet følges. Disse inkluderer:

a) Radioaktivt materiale skal oppbevares i et spesifisert område i en godkjent beholder.

b) Håndtering av radioaktivitet skal finne sted i et spesifisert område.

c) Det skal ikke utføres munnpipettering av radioaktivt materiale.

d) Det skal ikke spises, drikkes eller røkes i det spesifiserte området.

e) Hendene skal vaskes grundig etter omgang med radioaktivt materiale.

f) Det skal rådføres med den lokale strålingssikkerhetsansvarlige når det gjelder krav i forbindelse med avhendig.

6.4 Utstyr til flergangsbruk skal steriliseres med korrekt prosedyre etter bruk, den foretrukne metoden er autoklavering i 15 minutter ved 121°C. Engangsutstyr skal autoklaveres eller brennes. Søl av potensielt smittefarlig materialer skal fjernes omgående med absorberende papirduk og de kontaminerte områdene tørkes med et standard bakterielt desinfeksjonsmiddel eller 70% alkohol. IKKE bruk natriumhypokloritt. Materialer som har vært brukt til å rengjøre søl, inkludert hansker, skal kastes som biorisikabelt avfall.

6.5 Ikke pipetter med munnen. Bruk engangshansker og engangsøyevern mens du håndterer prøver og utfører analysen. Vask hendene grundig når du er ferdig.

6.6 Når de leverte reagensene brukes i samsvar med prinsippene for god laboratoriepraksis (GLP), gode normer for arbeidshygiene og instruksjonene i denne bruksanvisningen, blir de ikke ansett for å utgjøre en helsefare.

ANALYTISKE SIKKERHETSREGLER

6.7 Ikke bruk reagensene etter den påførte utløpsdatoen.

6.8 Latexreagensene skal ha romtemperatur (18 til 30°C) før bruk. Latexreagenser som viser tegn til aggregasjon eller 'klumping' før bruk kan ha vært frosne og må ikke brukes.

6.9 Når du bruker pipetteflasker, er det viktig at de holdes vertikalt og at dråpen formes på spissen av dysen. Hvis dysen blir våt, vil volumet som danner seg rundt enden, og ikke rundt spissen, være feil. Hvis dette skjer, tørk dysen før du fortsetter.

6.10 Reagensene som leveres med hvert kitt er tilpasset i ytelse og skal ikke brukes sammen med reagenser fra et kitt som har et annet partinummer (lot- nummer).

6.11 Ikke berør reaksjonsområdene på kortene.

6.12 Mekaniske rotatorer kan brukes i denne analysen. Følgende egenskaper er testet for å være tilfredsstillende:

i) Orbitale rotatorer (også kjent som dimensjonelle rotatorer) drives ved 25 rpm med ca. rotasjonsvinkel på mellom 9 og 10,5 grader eller drives ved 18 opm med en rotasjonsvinkel på mellom 16 og 17,5 grader.

6.13 Unngå mikrobiologisk kontaminasjon av reagensene, da dette kan føre til feilaktige resultater.

7. INNSAMLING OG OPPBEVARING AV PRØVER

7.1 Prøver av CSF og urin skal testes så raskt som mulig etter innsamling. Hvis væsken ikke kan testes omgående, kan den oppbevares over natten mellom 2 og 8°C, eller frossen over lengre perioder mellom –15 og –25°C. Dersom det skal utføres bakteriologiske analyser på prøven, skal disse settes opp før latekstesten utføres for å unngå at prøven blir kontaminert.

7.2 Blodkulturer kan prøves og testes etter 18 til 24 timers inkubasjon ved 37°C og/eller så snart det observeres bakteriologisk vekst.

7.3 Platekulturer (kun N. meningitidis B/E. coli K1). Isolerte kolonier som dyrkes på næringsrikt agarmedium (f.eks. blod, sjokoladeagar) kan testes etter inkubasjon over natten ved 37°C. Det bør utføres en gramfarging for å støtte tolkning av resultatene av latextesten.

8. TESTPROSEDYRE

MEDFØLGENDE NØDVENDIGE MATERIALER

Se **Innhold i kittet**, seksjon **5**.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE ER MEDFØLGER

Kokende vannbad

Laboratoriesentrifuge eller membranfiltre (0,45 µm)

Rotator (valgfritt – referer til Sikkerhetsregler, seksjon 6)

KLARGJØRING AV KLINISKE PRØVER

8.1 Prøver av CSF og urin må oppvarmes før testing med Wellcogen-prosedyren for å minimalisere ikke-spesifikke reaksjoner[4,6]. Følgende prosedyrer anbefales:

a) Varm opp prøven i 5 minutter i et kokende vannbad. Avkjøl prøven til romtemperatur (18 til 30°C) og klar den med sentrifugering eller membranfiltrering (0,45 µm) før testing. For maksimal sensitivitet kan urinprøvene konsentreres opp til 25 ganger i en Minicon® B-15 konsentrator. Klar den som over før testing.

8.2 **Blodkulturer**. Sentrifuger en prøve på 1 til 2 ml for å pelletere de røde blodcellene, for eksempel ved 1000 g i 5 til 10 minutter. Utfør latextesten på supernatanten. Hvis en ikke-spesifikk reaksjon oppstår med en blodkultursupernatant (se Tolkning av resultatene, seksjon 10), varm opp prøven i et kokende vannbad i 5 minutter, avkjøl til romtemperatur (18 til 30°C), klar den med sentrifugering og gjenta testen.

8.3 **Platekulturer** (kun N. meningitidis B/E. coli K1). Test direkte fra agarskålen.

PROSEDYRE

Det anbefales at seksjonen om **Sikkerhetsregler**, seksjon **6**, leses grundig før testen utføres.

Prøver av kroppsvæsker og blodkultur-supernatanter:

MERK: Dersom det kun er en begrenset mengde testprøver (materiale) tilgjengelig, bør den brukes med testlatxene først, og hvis det oppnås et positivt resultat, bør prøven testes med passende kontroll-latex. Hvis tilstrekkelig materiale er tilgjengelig, bør det testes mot både test- og kontroll-latexene samtidig.

Trinn 1	Prosesser prøven som beskrevet nedenfor **Klargjøring av kliniske prøver.**	
Trinn 2	Rist lateksreagentene.	
Trinn 3	Plasser 1 dråpe av hver **test-lateks** eller **kontroll-lateks** i en separat sirkel på et reaksjonskort. Sikre at pipetteflaskene holdes vertikalt for å dispense en nøyaktig dråpe. (Se **Sikkerhetsregler**, seksjon **6**).	**1 dråpe**
Trinn 4	Bruk en engangspipette, dispenser 1 dråpe (ca. 40 µl) med testprøve for hver dråpe lateks.	**1 dråpe**
Trinn 5	**Bland** innholdet i hver sirkel med en blandepinne og fordel for å dekke hele sirkelens område. Bruk en separat pinne for hver sirkel, og kast den for sikker avfallsbehandling etter bruk.	
Trinn 6	**Vugg** kortet langsomt, og **observer** for agglutinasjon i 3 minutter, idet kortet holdes i normal avlesningsavstand (25 til 35 cm) fra øynene. Ikke bruk forstørrelsesglass. Mekanisk rotasjon (3 minutter) kan brukes (Se **Sikkerhetsregler**, seksjon **6**). Mønstrene som avtegner seg er klare i kantene og kan gjenkjennes under alle normale lysforhold.	**3 min.**
Trinn 7	Kast det brukte reaksjonskortet for sikker avfallsbehandling.	

Platekulturer:
(Wellcogen kun N. meningitidis B/E. coli K1):

Trinn 1	Rist lateksreagentene.	
Trinn 2	For hver kultur som skal testes, plasser 1 dråpe med **testlateks** i en sirkel på et reaksjonskort og 1 dråpe **kontroll-lateks** i en separat sirkel. MERK: Det er avgjørende å bruke kontroll-lateks ved mistanke om E. coli-kulturer.	**1 dråpe**
Trinn 3	Ta en blandepinne, og hent opp litt av kulturen ved å berøre den med den flate enden på pinnen. Som veiledning skal en mengde vekst som er omtrent lik 1 stor koloni skal plukkes.	**Prøve av vekst**
Trinn 4	**Emulsifiser** prøven av kulturen i dråpen av **testlatex** ved å stryke den ut med den flate enden på pinnen. Stryk grundig, men ikke så voldsomt at det oppstår skader på kortets overflate. Fordel latexen slik at den dekker så mye av sirkelen som mulig. Kast blandepinnen for sikker avfallsbehandling.	
Trinn 5	Bruk en separat pinne, **emulsifiser** en liknende prøve av kultur i **kontroll-lateksen.**	
Trinn 6	**Vugg** kortet langsomt, og **observer** for agglutinasjon i 20 sekunder, idet kortet holdes i normal avlesnings- avstand (25 til 35 cm) fra øynene. Ikke bruk forstørrelsesglass. Mønstrene (agglutinasjonen)som avtegner seg, er klare i kantene og er lette å gjenkjenne under alle normale lysforhold.	**20 sek**.
Trinn 7	Kast det brukte reaksjonskortet for sikker avfallsbehandling.	

9. KVALITETSKONTROLL

Følgende prosedyrer skal utføres innledende for hver leveranse med testsett og før hver kjøring av testprøver. I praksis kan en kjøring defineres som en testperiode på opptil 24 timer. Alle avvik fra de forventede resultatene indikerer at det kan være et problem med reagentene, som må løses før videre bruk med kliniske prøver.

VISUELL INSPEKSJON

Latekssuspensjoner skal alltid inspiseres for aggregasjon når de dryppes på testkortet, og hvis det foreligger klumping før testprøven tilsettes, må suspensjonen ikke brukes. Etter lengre tids oppbevaring kan det oppstå aggregasjon eller tørking rundt flaskens topp. Dersom dette observeres, må flasken omrystes kraftig i et par sekunder til resuspensjonen er fullstendig.

PROSEDYRE FOR POSITIV KONTROLL

Testens reaktivitet kan bekreftes ved å tilsette polyvalent positiv kontroll til en reaksjonssirkel der testprøven ikke har agglutinert testlateksen etter 3 minutters rotasjon.

Trinn 1	Bruk en engangspipette for å tilsette 1 dråpe positiv Kontroller sirkelen som inneholder testlateksen og prøven.	**1 dråpe**
Trinn 2	Bland med en blandepinne, og kast den for sikker avfallsbehandling.	
Trinn 3	Vugg kortet manuelt eller med en rotator i ytterligere 3 minutter. Etter denne tiden skal klar agglutinasjon være synlig i testlatexen.	**3 min.**
Trinn 4	Kast det brukte reaksjonskortet for sikker avfallsbehandling.	

PROSEDYRE FOR NEGATIV KONTROLL

Hvis minst én testprøve i én kjøring gir et negativt resultat med test-og kontroll-lateksene (eller det kun er brukt testlateks der det ikke ble brukt kontroll-lateks), konstituterer dette en gyldig negativ kontroll for reagentene, og ingen ytterligere testing er nødvendig.

Hvis en testprøve gir agglutinasjon med testlateksen og ingen agglutinasjon med kontroll-lateksen, bør testlateksen testes enten med negativ kontroll eller uinokulert blodkulturmedium, etter det som passer (se nedenfor).

Trinn 1	Plasser en dråpe testlateks i en sirkel på et reaksjonskort.	**1 dråpe**
Trinn 2	Dispenser en dråpe negativ kontroll eller uinokulert blodkulturmedium ved siden av testlateksen.	**1 dråpe**
Trinn 3	Bland med en blandepinne, og kast den for sikker avfallsbehandling.	
Trinn 4	Vugg kortet manuelt eller med en rotator i ytterligere 3 minutter. Etter denne tiden skal det ikke være noen betydelig agglutinasjon i testlateksen.	**3 min.**
Trinn 5	Kast det brukte reaksjonskortet for sikker avfallsbehandling.	

For tester med prøver av CSF og urin skal den negative kontrollen som følger med i settet, brukes.

For tester med blodkulturer skal det brukes en prøve av uinokulert blodkulturmedium fra den samme kilden som prøven som negativ kontroll. Merk: Det er viktig å teste uinokulert medium ettersom det kan oppstå falske positiver med noen sammensetninger av blodkulturmedier.

Merknader:

a) Tidligere analyserte positive og negative prøver, alikvotert og oppbevart mellom –15 og –25°C eller under, kan brukes som henholdsvis positive og negative kontroller, hvis ønsket. Den positive kontrollen kan også brukes istedenfor testprøven.

b) For koloniidentifikasjonstester (Wellcogen kun N. meningitidis B/E. coli K1) kan test- og kontroll-lateksreagentene bekreftes med ferske, en natt gamle kulturer med referansefargede bakterier ved å følge metoden som beskrives i testprosedyre. Egnede referansestammer er:

ATCC 13090 – N. meningitidis gruppe B (positiv reaktivitet)

ATCC 23503 – E. coli type K1 (positiv reaktivitet)

ATCC 13077 – N. meningitidis gruppe A (negativ reaktivitet)

ATCC 13090 og ATCC 23503 bør gi agglutinasjon med testlateksen og ingen betydelig agglutinasjon i kontroll-lateksen, ATCC 13077 bør ikke gi noen betydelig agglutinasjon verken med test- eller kontroll-lateksen.

10. RESULTATER

AVLESNING AV RESULTATER

En positiv reaksjon indikeres ved at det utvikles et agglutinert mønster innen 3 minutter (20 sekunder for kolonitesting) når man blander lateksen med testprøven, som klart viser synlig klumping av latekspartikler (figur 1).

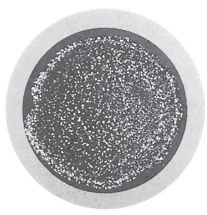
Hvor raskt dette opptrer og kvaliteten på agglutinasjonen avhenger av antigenets styrke og varierer fra store klumper som opptrer innen et par sekunders blanding til små klumper som utvikler seg heller langsomt. I kulturidentifikasjon vil de mest positive reaksjonene skje bortimot øyeblikkelig.

I en negativ reaksjon agglutinerer ikke lateksen, og det melkeaktige utseendet holder seg stort sett uendret gjennom hele testen (figur 2).

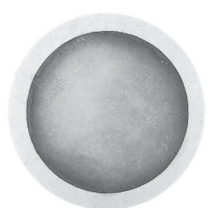
Merk imidlertid at det kan detekteres svake spor av korning i negative mønstre, avhengig av operatørens synsskarphet. I kulturidentifikasjon kan noen farginger forårsake en "trådet" aggregering av lateksen på en melkeaktig bakgrunn, dette skal tolkes som en negativ reaksjon.

MERK: Latekspartiklene som brukes i suspensjoner av Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 test- og kontroll-latekser er ikke de samme som de som brukes for de andre reagentene og gir en finere agglutinering.

Figur 1



Figur 2



TOLKNING AV RESULTATER

Positivt resultat

Klar agglutinasjon av en enkel testlateks fulgt av negative reaksjoner med alle andre testlateks-reagenter og kontroll-lateks indikerer nærværet og identiteten av et bakterielt antigen i testprøven. Som en generell regel antyder et positivt resultat med Wellcogen N. meningitidis B/ E. coli K1 mot en neonatal prøve E. coli K1-infeksjon; for eldre pasienter er det mer sannsynlig med gruppe B-meningokokker.

Negativt resultat

Negative reaksjoner med alle testlateks-reagenter indikerer fraværet av et registrerbart nivå av de bakterielle antigenene i testvæsken – det eliminerer ikke muligheten for en infeksjon forårsaket av disse organismene, og hvis symptomene vedvarer, kan det være ønskelig å utføre testen på etterfølgende eller alternative prøver eller etter konsentrasjon av urinprøven.

Med en kultur indikerer mangelen på agglutinasjon i Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1-reagenter at det ikke er sannsynlig at det er N. meningitidis gruppe B eller E. coli K1.

Ikke-tolkbart resultat

Agglutinasjon av mer enn én testlateks-reagent eller tilsvarende testog kontroll-latekser indikerer en ikke-spesifikk reaksjon. I de fleste tilfeller kan ikke-spesifikke reaksjoner med kroppsvæsker elimineres ved at prøven oppvarmes og klares[4] (se Klargjøring av kliniske prøver, seksjon 8). Hvis en ikke-spesifikk reaksjon oppstår med en blodkultursupernatant, varm opp prøven i et kokende vannbad i 5 minutter, avkjøl til romtemperatur (18 til 30°C), klar den med sentrifugering og gjenta testen.

11. YTELSESBEGRENSNINGER

11.1 For kroppsvæsker fra spedbarn (kun gruppe B-strep) – Feile negative testresultater kan oppstå med prøver som inneholder nivåer av antigen under grensene som denne enheten kan detektrere. Negative resultater skal oppfølges med selektiv buljongkultur. Et positivt resultat indikerer nærværet av gruppe B-streptokokkalt antigen. Resultatet indikerer ikke nødvendigvis nærværet av levende organismer.

11.2 For kroppsvæsker fra spedbarn (kun gruppe B-strep) – Bruk av denne enheten skal ikke erstatte mikrobiologisk dyrkning. Det er ikke blitt fastslått forutsigelse av gruppe B-streptokokkal sykdom fra tester av spedbarnurin ved bruk av denne enheten.

11.3 Gruppe B-streptokokkale infeksjoner opptrer først og fremst hos nyfødte. Positive resultater som er oppnådd med prøver av kroppsvæske fra pasienter som er eldre enn seks måneder, bør tolkes med aktsomhet. Positive resultater som er oppnådd med blodkultur-supernatanter fra pasienter uansett alder kan være signifikante.

11.4 Et positivt resultat i testen avhenger av nærværet av et detekterbart nivå av antigen i medium fra kroppsvæske eller blodkultur.

11.5 Det er rapportert noen få eksempler på ubeslektet bakterie som har felles antigener og, som for alle immunologiske testsystemer, hvor sannsynligheten for kryssreaksjoner som oppstår i latekstesten ikke kan utelukkes[1,3,8,9].

12. FORVENTEDE RESULTATER

Prøver som inneholder et detekterbart nivå av gruppe B-streptokokkalt antigen, H. influenzae type b-antigen, S. pneumoniae kapsular antigen, N. meningitidis A, C, Y, W135-antigener eller N. meningitidis B / E. coli K1-antigen, vil gi en agglutinasjonsreaksjon med den riktige testlateksen.

13. YTELSESEGENSKAPER

13.1 Kroppsvæsker og blodkulturer

Det er utført kliniske studier i 15 sentre ved bruk av prøver av kroppsvæsker (ferske og frosne) og blodkultur-supernatanter. Både tradisjonelle og radiometrisk kulturelle teknikker ble brukt i studiene av blodkultur. Oppbevarte prøver av kroppsvæsker ble ikke oppvarmet som beskrevet under **Klargjøring av kliniske prøver**, seksjon 8. Utvidet laboratorietesting har ikke vist noe betydelig tap av antigen etter oppvarming ifølge denne prosedyren.

Sensitivitet

Sensitiviteten til hver lateks i settet ble fastslått fra tester på prøver med positive kulturer for den homologene organismen eller hvor det forelå annet bevis for infeksjon for (klinisk diagnose pluss annen positiv test av antigen).

Tabellene 2 til 6 viser hvor mange typer prøver som ble testet med individuelle latekser sammen med hvor mange positive resultater som ble oppnådd. Sensitiviteten til hver lateks når det gjelder deteksjon av bakterielt antigen i CSF var 64.3% (9/14) for Wellcogen Strep B, 96.3% (78/81) for Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45) for Wellcogen S. pneumoniae, 71% (29/41) for Wellcogen N. meningitidis ACY W135 og 62.5% (10/16) for Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Spesifisitet

Spesifisiteten til hver av Wellcogen-reagentene ble evaluert ved hjelp av kroppsvæske (fersk og frossen) og prøver av blodkultur fra pasienter med bakteriell eller aseptisk meningitis og andre ubeslektede tilstander.

Organismene som ble isolert fra de infiserte prøvene, var H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis inkludert grupper A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, alfahemolytisk streptokokkus, betahemolytisk streptokokkus gruppe A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii og en coliform bakterie.

Spesifisiteten til alle fem Wellcogen-lateksene i tester på CSF, var høyere enn 98%. Detaljer om antallet testede prøver og spesifisiteten til hver Wellcogen med hver type prøve, er gitt i tabellene 2 til 6.

13.2 Platekulturer (N. meningitidis B/E. coli K1).

Kulturer (kolonier) av N. meningitidis og E. coli som har vokset på et næringsrikt agarmedium ble testet i sykehuslaboratorier og i huset. Alle kulturene av N. meningitidis gruppe B og E. coli K1 ble korrekt identifisert. Det var ingen kryssreaksjoner med andre grupper av N. meningitidis- eller andre E. coli K-antigener (tabell 7). En høy andel av E. coli-kulturene med andre K-antigener som ble testet, ga ikke-spesifikke reaksjoner (tabell 7).

Tabell 1

Prøver som er evaluert med individuelle Wellcogen-lateksreagenter

Prøve	Wellcogen				
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/E. coli K1
CSF	+	+	+	+	+
Urin	+	–	–	–	–
Blodkultur	+	+	+	+	+
Bakterielle kolonier	–	–	–	–	+

Nøkkel
+ Data tilgjengelige som støtte for denne anvendelsen.
– Ingen data tilgjengelige.

Tabell 2

Resultater av kliniske studier på Wellcogen Strep B

	Sensitivitet[a]		Spesifiisitet[b]	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant.positive
CSF	14	9	34	0
Urin	19	16	18	1[c]
Blodkultur	9	9	369	4[d]

[a] beta-hemolytiske streptokokker gruppe B isolert/indisert (klinisk diagnose/annen antigen test).
[b] Bakterie annen enn Strep. B/ingen vekst.
[c] P. mirabilis isolert.
[d] Staph. epidermidis; betahemolytisk strep. gruppe A; E. coli + enterokokker; Staph. epidermidis + enterokokker isolert.

Tabell 3

Resultater av kliniske studier på Wellcogen H. influenzae b

	Sensitivitet		Spesifisitet	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant.positive
CSF	81	78	366[a]	2[b]
Blodkultur	54	54	1566[c]	5[d]

[a] En ekstra CSF-prøve ga en ikke-spesifikk reaksjon.
[b] En prøve aseptisk; E. coli isolert fra annen prøve.
[c] To ekstra blodkultur-supernatanter ga ikke-spesifikke reaksjoner.
[d] En prøve aseptisk. Andre prøver vokste: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; alfahemolytiske streptokokker.

Tabell 4

Resultater av kliniske studier på Wellcogen S. pneumoniae

	Sensitivitet		Spesifisitet	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant.positive
CSF	45	39	466[a]	2[b]
Blodkultur	113	109	1512	7[d]

[a] En ekstra CSF ga en ikke-spesifikk reaksjon.
[b] Enterobacter aerogenes; coliform bakterie.
[c] Tre ekstra urinprøver ga ikke-spesifikke reaksjoner.
[d] Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + enterokokker; Strep. viridans isolert fra 4 prøver.

Tabell 5

Resultater av kliniske studier på Wellcogen N. meningitidis ACY W135

	Sensitivitet		Spesifisitet	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant.positive
CSF	41[a]	29	423	2[b]
Blodkultur	7	7	1615	2[d]

[a] Inkluderer 8 gruppe A, 25 gruppe C og 1 gruppe Y (de resterende ble ikke gruppert).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Fem ekstra urinprøver ga ikke-spesifikke reaksjoner.
[d] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + enterokokker.

Tabell 6

Resultater av kliniske studier på Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

	Sensitivitet		Spesifisitet	
Prøve	Ant. testet	Ant. positive	Ant. testet	Ant.positive
CSF N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Blodkultur: N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Prøver oppbevart frosne. Alle andre prøver testet ferske.
[b] Aerobiske og anaerobiske kulturer (betahemolytisk strep A) for samme pasient; koagulase negative stafylokokker.

Tabell 7

Identifikasjon av kulturer ved hjelp av Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Kultur[a]	+	–
N. meningitidis gruppe A	0	16
N. meningitidis gruppe B	10	0
N. meningitidis gruppe C	0	18
N. meningitidis gruppe 29E	0	8
N. meningitidis gruppe W135	0	7
N. meningitidis gruppe X	0	4
N. meningitidis gruppe Y	0	5
N. meningitidis gruppe Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – andre antigener	0	13[b]

[a] Kulturer identifisert gjennom agglutinasjon i objektglass.
[b] 10 ekstra kulturer ga ikke-spesifikke reaksjoner.

14. BIBLIOGRAFI

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

For teknisk støtte www.thermofisher.com

X7713E. revidert Januar 2025

PL

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Zestaw Wellcogen do wykrywania antygenów bakteryjnych

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

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) i posiewów krwi w wyniku infekcji. Zestaw można również wykorzystywać do badania próbki mocz z posiewów krwi antygenów Streptococcus z grupy B z tych antygenów oraz posiewów płytkowych dla N. meningitidis z grupy B lub Escherichia coli K1. (wskazania poparte danymi klinicznymi zestawiono w Tabeli 1).

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.

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 mózgowordzeniowy lub surowica i jest wydalana z moczem. Antygeny te można wykrywać przy użyciu czułych metod immunologicznych, takich jak immunelektroforeza przeciwbieżna oraz aglutynacja lateksowa[2,5,6,10].

3. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Odczynniki Wellcogen zawierają cząsteczki lateksu polistyrenowego, które zostały opłaszczone przeciwciałami przeciwko antygenom bakteryjnym. W obecności wystarczającej ilości antygenu 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[6], jak również jest strukturalnie i immunologicznie spokrewniony z antygenem E. coli K1[7]; obydwa one reagują z odczynnikiem N. meningitidis grupy B.

4. DEFINICJE SYMBOLI

REF	Numer katalogowy
IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
i	Zapoznać się z instrukcją używania (IFU)
	Ograniczenia dotyczące temperatury (temperatura przechowywania)
Σ N	Zawartość wystarcza do wykonania <N> testów
LOT	Kod partii (numer serii)
	Data przydatności (termin ważności)
UDI	Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu
EC REP	Upoważniony przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
UK CA	Ocena zgodności z nomami obowiązującymi w Wielkiej Brytanii
CE	Ocena zgodności z normami europejskimi
	Producent

5. ZAWARTOŚĆ, PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA I PRZECHOWYWANIE ZESTAWU

Zestaw Wellcogen Bacterial Antigen Kit zawiera odczynniki wystarczające do wykonania 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.

i **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 opłaszczone są odpowiednim przeciwciałem króliczym podanym na etykiecie, za wyjątkiem odczynnika N. meningitidis grupy B/E. coli K1, który jest opłaszczony mysim przeciwciałem monoklonalnym.

CONTROL LATEX **Lateksy kontrolne**

5 buteleczek z zakraplaczem (ciemnoniebieska zakretka), zawierających 0.5% zawiesiny cząsteczek lateksu polistyrenowego w buforze zawierającym 0.05% preparatu Bronidox® i/lub 0.1% azydku sodu jako konserwant. Cząsteczki lateksu opłaszczone 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 (niebieski 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.

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. 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 spłukiwać 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:

a) Materiał radioaktywny należy przechowywać w wyznaczonym miejscu w zatwierdzonym pojemniku.
b) Obchodzenie się z substancjami radioaktywnymi winno odbywać się w wyznaczonym miejscu.
c) Zabrania się pipetowania materiałów radioaktywnych ustami.
d) Zabrania się jedzenia, picia i palenia tytoniu w wyznaczonym miejscu.
e) Po użyciu materiałów radioaktywnych należy dokładnie umyć ręce.
f) 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.

6.5 NIE stosować podchlorynu sodu. Materiały używane przy czyszczeniu rozlanych płynów, włącznie z rękawicami, należy utylizować tak, jak biologiczne odpady niebezpieczne. 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 zbrylenia 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:

i) 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 P**próbki płyn mózgowo-rdzeniowy i 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**)

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK KLINICZNYCH

8.1 **Próbki płyn mózgowo-rdzeniowy i mocz** muszą zostać ogrzane przed badaniem zgodnie z procedurą Wellcogen, aby zminimalizować reakcje nieswoiste[4,6]. Zaleca się stosowanie następujących procedur:

a) 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.

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.

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

Posiewy na płytkach:
(Tylko Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1):

Krok 1	Wstrząsnąć odczynniki lateksowe.
Krok 2	Dla każdej hodowli, dla której ma zostać wykonany test, odmierzyć 1 kroplę **lateksu testowego** w jednym polu na kartoniku reakcyjnym i 1 kroplę **lateksu kontrolnego** w oddzielnym polu. UWAGA: niezbędne jest użycie **lateksu kontrolnego** dla podejrzanych hodowli E. coli. **1 kropla**
Krok 3	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 wyrosłej kolonii.
Krok 4	**Zemulgować** próbkę hodowli w kropli **lateksu testowego** 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.
Krok 5	Używając oddzielnego patyczka, **zemulgować** podobną próbkę hodowli w **lateksie kontrolnym**.
Krok 6	**Kołysać** powoli kartonikiem i **obserwować,** 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. **20 sekund**
Krok 7	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 wstrząsać 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.

Krok 1	Posługując się jednorazowym zakraplaczem, dodać 1 kroplę dodatniej kontroli do pola zawierającego lateks testowy i próbkę. **1 kropla**
Krok 2	Wymieszać przy użyciu patyczka do mieszania i odłożyć w celu bezpiecznego usunięcia.
Krok 3	Kołysać kartonikiem ręcznie lub przy użyciu rotatora przez kolejne 3 minuty. Po upływie tego czasu, wyraźna aglutynacja powinna być widoczna w lateksie testowym. **3 minuty**
Krok 4	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).

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

a) 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°C lub niższej. Kontrola dodatnia może być również zastosowana zamiast próbki badanej.

b) 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

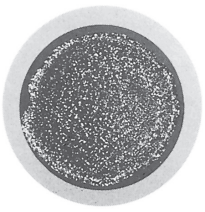
Na reakcję pozytywną wskazuje pojawienie się aglutynacji w ciągu 3 minut (20 sekund dla testów kolonii) od zmieszania lateksu z badaną próbką, wykazującej wyraźnie widoczne zlepianie się cząstek lateksu (Rysunek 1).

Prędkość pojawiania się i jakość aglutynacji uzależnione są od siły antygenu - występują rozmaite grudki: od dużych pojawiających się po kilku sekundach od zmieszania, po małe tworzące się raczej powoli. W przypadku identyfikacji hodowli, większość reakcji dodatnich będzie prawie natychmiastowa.

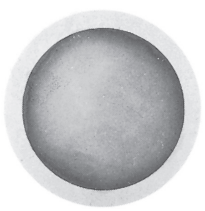
W przypadku reakcji ujemnej nie dochodzi do aglutynacji lateksu, a mleczny wygląd pozostaje zasadniczo niezmieniony przez cały czas trwania badania (Rysunek 2). Należy jednak pamiętać, że znikome ilości grudek mogą być wykrywalne we wzorach ujemnych, w zależności od ostrości wzroku operatora. W przypadku 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



INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wynik dodatni

Wyraźna aglutynacja pojedynczego lateksu testowego, której towarzyszą reakcje ujemne dla wszystkich innych odczynników lateksu testowego i lateksu kontrolnego oznacza występowanie i tożsamość antygenu bakteryjnego 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 możliwego 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[4] (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.

11. OGRANICZENIA DZIAŁANIA

11.1 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 antygenu paciorkowców grupy B; wynik niekoniecznie oznacza obecność żywych organizmów.

11.2 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.

11.3 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.

11.4 Dodatni wynik testu uzależniony jest od obecności wykrywalnego poziomu antygenu w płynie ustrojowym lub pożywce do posiewu krwi.

11.5 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[1,3,8,9].

12. WYNIKI OCZEKIWANE

Próbki zawierające wykrywalne poziomy antygenu paciorkowca z grupy B, antygenu H. influenzae typu b, antygenu otoczkowego S. pneumoniae, antygenów N. meningitidis A, C, Y, W135 lub antygenu 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 antygenu 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 64.3% (9/14) dla Wellcogen Strep B, 96.3% (78/81) dla Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45) for Wellcogen S. pneumoniae, 71% (29/41) dla Wellcogen N. meningitidis ACY W135 oraz 62.5% (10/16) 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	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/E. coli K1
Płyn mózgowordzeniowy	+	+	+	+	+
Mocz	+	–	–	–	–
Posiew krwi	+	+	+	+	+
Kolonie bakteryjne	–	–	–	–	+

Objaśnienia
+ Dostępne dane wspierające niniejsze zastosowania.
– Brak dostępnych danych.

Tabela 2

Wyniki badań klinicznych nad Wellcogen Strep B

Próbka	Czułość[a]		Specyficzność[b]	
	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich
Płyn mózgowordzeniowy	14	9	34	0
Mocz	19	16	18	1[c]
Posiew krwi	9	9	369	4[d]

[a] beta-hemolizujący paciorkowiec z grupy B wyizolowany/wykryty (diagnoza kliniczna / inny test antygenowy).
[b] bakterie inne niż paciorkowce. B/brak wzrostu.
[c] P. mirabilis wyizolowane.
[d] Staph. epidermidis; beta-hemolizujący strep. z grupy A; E. coli + Enterococcus; Staph. epidermidis + Enterococcus wyizolowane.

Tabela 3

Wyniki badań klinicznych nad WellcogenTM H. influenzae b

Próbka	Czułość		Specyficzność	
	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich
Płyn mózgowordzeniowy	81	78	366[a]	2[b]
Posiew krwi	54	54	1566[c]	5[d]

[a] Jedna dodatkowa próbka płynu mózgowo-rdzeniowego dała reakcję nieswoistą.
[b] Jedna próbka aseptyczna; E. coli wyizolowane z innej próbki.
[c] Dwa dodatkowe supernatanty z hodowli krwi dały reakcje nieswoiste.
[d] Jedna próbka aseptyczna. Wzrost w pozostałych próbkach: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; alfa-hemolizujący paciorkowiec.

Tabela 4

Wyniki badań klinicznych nad WellcogenTM S. pneumoniae

Próbka	Czułość		Specyficzność	
	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich
Płyn mózgowordzeniowy	45	39	461[a]	2[b]
Posiew krwi	113	109	1512	7[c]

[a] Jedna dodatkowa próbka płynu mózgowo-rdzeniowego dała reakcję nieswoistą.
[b] Enterobacter aerogenes; bakterie z grupy coli.
[c] Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus; Strep. viridans wyizolowane z 4 próbek.

Tabela 5

Wyniki badań klinicznych nad WellcogenTM. meningitidis ACY W135

Próbka	Czułość		Specyficzność	
	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich
Płyn mózgowordzeniowy	41[a]	29	423	2[b]
Posiew krwi	7	7	1615	2[d]

[a] Obejmuje 8 z grupy A, 25 z grupy C i 1 z grupy Y (pozostałe nie pogrupowane).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Pięć dodatkowych próbek moczu dało reakcje nieswoiste.
[d] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus.

Tabela 6

Wyniki badań klinicznych nad Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Próbka	Czułość		Specyficzność	
	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich
Płyn mózgowordzeniowy				
N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Posiew krwi:				
N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Próbki przechowywane w postaci zamrożonej. Wszystkie inne próbki badane jako świeże.
[b] 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[a]	+	–
N. meningitidis grupa A	0	16
N. meningitidis grupa B	10	0
N. meningitidis grupa C	0	18
N. meningitidis grupa 29E	0	8
N. meningitidis grupa W135	0	7
N. meningitidis grupa X	0	4
N. meningitidis grupa Y	0	5
N. meningitidis grupa Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – inne antygeny	0	13[b]

a Hodowle identyfikowane poprzez aglutynację szkiełkową.
b 10 dodatkowych hodowli dało reakcje nieswoiste.

14. PIŚMIENNICTWO

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

Aby uzyskać pomoc techniczną, www.thermofisher.com

X7713E. Poprawiono styczeń 2025

PT

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Kit de Antigénio Bacteriano Wellcogen

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. USO PRETENDIDO

O Wellcogen™ Bacterial Antigen Kit fornece uma série de testes de látex rápidos para utilização na detecção qualitativa de antigénio de Estreptococos do grupo B, Haemophilus influenzae tipo b, Streptococcus pneumoniae (pneumococos), Neisseria meningitidis (meningococos) dos grupos A, B, C, Y ou W135 e Escherichia coli K1 presentes no líquido cefalorraquidiano (LCR) e de cultura sanguínea, como consequência de uma infecção. O kit também pode ser utilizado para testar amostra de urina para antigénio de Estreptococos do grupo B e placas de cultura de N. meningitidis do grupo B ou Escherichia coli K1. (Consultar as indicações corroboradas por dados clínicos na Tabela 1).

NOTA: Os testes realizados directamente em amostras clínicas destinam-se a fins de rastreio e devem complementar, e não substituir, os procedimentos com culturas. Os resultados devem ser utilizados em conjunto com outros dados, como p. ex., sintomas, resultados de outros testes, impressões clínicas, etc.

2. RESUMO

A meningite tem uma grande variedade de possíveis causas, tanto infecciosas como não-infecciosas. Se a meningite bacteriana não for tratada de forma rápida e eficaz, a doença pode ser fatal. A identificação precoce do agente infeccioso pode ser de grande utilidade na administração de quimioterapia apropriada e adequada para o paciente. Muitas espécies bacterianas têm sido associadas à meningite. O Estreptococos do grupo B e a E. coli K1 constituem duas das causas mais comuns de sepsia neonatal, enquanto que em grupos etários mais velhos os isolados mais comuns são a H. influenzae tipo b, S. pneumoniae e N. meningitidis dos grupos A, B, C, Y e W135. Estes organismos transportam antigénios de superfície de polissacarídeos específicos, dos quais uma determinada quantidade se dissemina para meios de cultura ou fluidos corporais como o LCR ou o soro, sendo excretados na urina. Os antigénios podem ser detectados através de métodos imunológicos sensíveis como a contra-imunoelectroforese (CIE) e a aglutinação em látex[2,5,6,10].

3. PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Os reagentes Wellcogen consistem de partículas de látex poliestireno que foram revestidas com anticorpos contra os antigénios bacterianos. Estas partículas de látex aglutinam-se na presença de antigénio homólogo suficiente. Os reagentes Estreptococos e H. influenzae são específicos do grupo B e do tipo b, respectivamente, o reagente S. pneumoniae é sensibilizado com anticorpos purificados provenientes de um soro omnivalente e o reagente N. meningitidis polivalente reage com os antigénios dos grupos A, C, Y e W135. O antigénio do Meningococos do grupo B é mais difícil de detectar[6], além de estar estruturalmente e imunologicamente relacionado com o antigénio K1 da E. coli[7]; ambos reagem com o reagente N. meningitidis do grupo B.

4. DEFINIÇÕES DOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Consultar as Instruções de utilização (IFU)
	Limitações de temperatura (temp. de armazenamento)
Σ N	Conteúdo suficiente para <N> testes
LOT	Código de lote (número de lote)
	Utilizar até (data de expiração)
	Importador
EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia
UK CA	Conformidade avaliada no Reino Unido
CE	Avaliação de conformidade europeia
	Fabricante

5. CONTEÚDO DO KIT. PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO E CONSERVAÇÃO

O Wellcogen Bacterial Antigen Kit inclui reagentes suficientes para realizar 30 testes.

Consultar também **Precauções**, secção **6**.

Todos os componentes devem ser conservados entre 2 e 8°C, condição na qual conservarão a sua actividade até ao final do prazo de validade do kit.

Antes da sua utilização, deixe os reagentes atingir a temperatura ambiente (18 - 30°C) e misture. Após a utilização, volte a colocar os reagentes não utilizados no frigorífico.

Instruções de utilização

Cartões de reacção descartáveis (2 pacotes)
Varetas de mistura descartáveis (5 pacotes)
Conta-gotas descartáveis (1 recipiente)
Tetina de borracha preta (1)

TEST LATEX **Látex de teste**

Strep B (tampa rosa)
H. influenzae b (tampa azul pálida)
S. pneumoniae (tampa amarela)
N. meningitidis ACY W135 (tampa cinzenta)
N. meningitidis B/E. coli K1 (tampa castanha)

Cinco frascos conta-gotas, um específico para cada um dos grupos referidos acima, contendo 0,5% de suspensões de partículas de látex poliestireno em tampão, com Bronidox® a 0,05% e/ou azida de sódio a 0,1% como conservante. As partículas de látex são revestidas com anticorpo de coelho apropriado, tal como indicado no rótulo, à excepção do reagente N. meningitidis do grupo B/E. coli K1, que é revestido com anticorpo monoclonal de murino.

CONTROL LATEX **Látex de controlo**

5 frascos conta-gotas (tampa azul escura), contendo 0,5% de suspensões de partículas de látex poliestireno em tampão, com Bronidox® a 0,05% e/ou azida de sódio a 0,1% como conservante. As partículas de látex são revestidas com uma preparação apropriada de globulina de coelho ou, no caso do látex de N. meningitidis do grupo B/E. coli K1, um anticorpo monoclonal de murino anti-Bordetella bronchiseptica.

As suspensões de látex são fornecidas prontas a usar e devem ser conservadas entre 2 e 8°C na posição vertical, até ao final do prazo de validade do kit. Após um armazenamento prolongado pode ocorrer alguma agregação ou secagem do látex em redor da tampa do frasco. Nestas circunstâncias, o frasco de látex deve ser agitado vigorosamente durante alguns segundos até a ressuspensão estar concluída. NÃO CONGELAR.

CONTROL + **Controlo positivo polivalente**

Dois frascos (tampa azul) com extractos bacterianos liofilizados contendo antigénios de estirpes representativas de cada espécie bacteriana para a qual o látex é fornecido. Contém 0,01% de bronopol antes da reconstituição e 0,004% depois de reconstituído.

Reconstitua com 3,6 ml de água destilada estéril. Após a adição de água, deixe assentar durante alguns minutos e depois agite para misturar. Conserve o antigénio reconstituído entre 2 a 8°C por um período de até 6 meses.

CONTROL – **Controlo Negativo**

Um frasco conta-gotas (tampa branca) contendo tampão de glicina-solução salina, pH 8,2, com 0,05% de Bronidox® como conservante.

6. PRECAUÇÕES

IVD

Os reagentes destinam-se apenas para uso em diagnóstico *in vitro.*

Exclusivamente para uso profissional.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança do Material (FDSM) e a rotulagem do produto para obter informações sobre componentes potencialmente perigosos.

INFORMAÇÕES A NÍVEL DA SAÚDE E SEGURANÇA

6.1 Os látex de teste e de controlo para Estreptococos do grupo B, H. influenzae tipo b, S. pneumoniae e N. meningitidis ACY W135 contêm 0,1% de azida de sódio. As azidas podem reagir com o cobre e chumbo contidos em alguns sistemas de canalização, formando sais explosivos. As quantidades utilizadas neste kit são pequenas. No entanto, quando eliminar materiais contendo azida, estes devem ser despejados nas canalizações juntamente com uma grande quantidade de água.

6.2 De acordo com os princípios das Boas Práticas Laboratoriais, recomenda-se fortemente que os fluidos corporais sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados com todas as precauções necessárias.

6.3 Aquando do manuseamento de meios de cultura sanguínea radiométricos, devem ser seguidas as regras básicas de segurança contra radiação. Estas incluem:

a) O material radioactivo deve ser guardado numa área designada, dentro de um recipiente aprovado para o efeito.

b) O manuseamento de material radioactivo deve ter lugar numa área designada para o efeito.

c) Não pipetar material radioactivo com a boca.

d) Não comer, beber ou fumar na área designada.

e) Lavar cuidadosamente as mãos após a utilização de material radioactivo.

f) Deve consultar o Gabinete de Segurança contra Radiação local relativamente aos requisitos de eliminação do material.

6.4 Os instrumentos não descartáveis devem ser esterilizados após a sua utilização mediante procedimento adequado, embora o método preferido seja a esterilização em autoclave durante 15 minutos a 121°C. Os instrumentos descartáveis devem ser submetidos a autoclave ou incinerados. Os materiais potencialmente infecciosos derramados devem ser removidos imediatamente com papel absorvente e deve-se esfregar as áreas contaminadas com um desinfectante bacteriano normal ou com álcool a 70%. NÃO utilize hipoclorito de sódio. Os materiais utilizados para limpar derrames, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos biológicos perigosos.

6.5 Não pipete os materiais com a boca. Use luvas descartáveis e protecções oculares durante o manuseamento das amostras e a realização do ensaio. Lave cuidadosamente as mãos quando terminar.

6.6 Quando utilizados de acordo com os princípios das Boas Práticas Laboratoriais, as boas normas da higiene ocupacional e as instruções indicadas nas Instruções de Utilização, não se considera que os reagentes fornecidos constituam um risco para a saúde.

PRECAUÇÕES ANALÍTICAS

6.7 Não utilize os reagentes para além do prazo de validade indicado.

6.8 Os reagentes de látex devem ser trazidos até à temperatura ambiente (18 a 30°C) antes da utilização. Os reagentes de látex que mostram sinais de agregação ou aglomeração antes da utilização, podem ter sido congelados e não devem ser utilizados.

6.9 Quando utilizar frascos conta-gotas, é importante segurá-los na vertical e que a gota se forme na ponta do bocal. Se o bocal estiver húmido, formar-se-á um volume incorrecto em redor da extremidade inferior e não na ponta; se tal ocorrer, seque o bocal antes de prosseguir.

6.10 Os reagentes fornecidos com este kit estão equiparados em termos de desempenho e não devem ser utilizados em conjunto com reagentes de outro kit com um número de lote diferente.

6.11 Não toque nas áreas de reacção dos cartões.

6.12 Podem ser utilizados agitadores mecânicos neste ensaio. As seguintes características foram consideradas satisfatórias:

i) Os agitadores orbitais (também designados por agitadores dimensionais) a funcionar a 25 rpm com um ângulo de rotação aproximado de 9 a 10,5 graus ou a 18 rpm com um ângulo de rotação de 16 a 17,5 graus.

6.13 Evite a contaminação microbiana dos reagentes, que poderá originar resultados erróneos.

7. COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

7.1 As amostras de LCR e urina devem ser testadas o mais rapidamente possível após a colheita. Se não for possível testar o fluído de imediato, este pode ser conservado de um dia para o outro entre 2 e 8°C, ou durante períodos maiores congelado entre –15 e –25°C. Se for necessário efectuar análises bacteriológicas à amostra, estas deverão ser preparadas antes da realização do teste de látex, para evitar contaminar a amostra.

7.2 As culturas sanguíneas podem ser divididas em amostras e testadas após 18 a 24 horas de incubação a 37°C e/ou logo que se observe crescimento bacteriano.

7.3 Placas de cultura (apenas N. meningitidis B/E. coli K1). As colónias isoladas crescendo em meio de ágar enriquecido (p. ex., sangue, ágar-chocolate) podem ser testadas após incubação de um dia para o outro a 37°C. Deve ser feita uma coloração Gram para auxiliar na interpretação do resultado do teste de látex.

8. PROCEDIMENTO DE TESTE

MATERIAIS NECESSÁRIOS FORNECIDOS

Consulte Conteúdo do Kit, secção 5.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Banho de água a ferver

Centrífuga de laboratório ou filtros de membrana (0,45 µm)

Agitador (opcional – consultar **Precauções**, secção **6**)

PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS CLÍNICAS

8.1 As amostras de LCR e urina devem ser aquecidas antes de testadas com o procedimento Wellcogen, por forma a minimizar reacções não específicas[4,6]. Recomendam-se os seguintes procedimentos:

a) Aqueça a amostra durante 5 minutos num banho de água a ferver. Arrefeça a amostra até à temperatura ambiente (18 a 30°C) e clarifique-a por meio de centrifugação ou filtração por membrana (0,45 µm) antes do teste. Para se obter a sensibilidade máxima, as amostras de urina podem ser concentradas até 25 vezes num concentrador Minicon® B-15. Proceder à clarificação antes do teste, como descrito acima.

8.2 **Culturas sanguíneas**. Centrifugue uma amostra de 1 a 2 ml para suspender os eritrócitos, por exemplo a 1000 g durante 5 a 10 minutos. Realize o teste de látex no sobrenadante. Se ocorrer uma reacção não específica com um sobrenadante da cultura sanguínea (consultar **Interpretação de Resultados**, secção **10**), aqueça a amostra num banho de água a ferver durante 5 minutos, arrefeça até à temperatura ambiente (18 a 30°C), clarifique por meio de centrifugação e repita o teste.

8.3 **Placas de cultura** (apenas N. meningitidis B/E. coli K1). Teste directamente a partir da placa de cultura.

PROCEDIMENTO

Recomenda-se que a secção **6, Precauções** seja lida com atenção antes da realização do teste.

Amostras de fluidos corporais e sobrenadantes de cultura sanguínea:

NOTA: Se houver apenas um volume limitado de amostra de teste disponível, esta deve ser utilizada primeiro com os látex de teste e, no caso de obtenção de um resultado positivo, testada com o látex de controlo apropriado. Se estiver disponível amostra suficiente, esta deve ser testada em simultâneo com os látex de teste e de controlo.

Passo 1	Processe a amostra como descrito em **Preparação de Amostras Clínicas.**	
Passo 2	Agite os reagentes de látex.	
Passo 3	Coloque 1 gota de cada **látex de teste** ou **látex de controlo** num círculo separado de um cartão de reacção. Certifique-se de que os frascos conta-gotas são mantidos na vertical a fim de dispensar uma gota exacta. (Consultar **Precauções**, secção **6**).	**1 gota**
Passo 4	Com um conta-gotas descartável, dispense 1 gota (aproximadamente 40 µl) de **amostra de teste** junto de cada gota de látex.	**1 gota**
Passo 5	**Misture** o conteúdo de cada círculo com uma vareta de mistura e espalhe de modo a cobrir a área total do círculo. Utilize uma vareta em separado para cada círculo e ponha-a de parte para posterior eliminação segura após a utilização.	
Passo 6	**Agite** o cartão lentamente e observe para detecção de sinais de aglutinação durante 3 minutos, segurando o cartão a uma distância de leitura normal (25 a 35 cm) dos olhos. Não utilize uma lupa. Pode ser utilizada agitação mecânica (3 minutos) (Consultar **Precauções**, secção **6**). Os padrões obtidos são inequívocos e reconhecíveis em todas as condições de iluminação normais.	**3 minutos**
Passo 7	Ponha de parte o cartão de reacção usado para posterior eliminação segura.	

Placas de cultura:
(Apenas Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1):

Passo 1	Agite os reagentes de látex.	
Passo 2	Para cada cultura a testar, coloque 1 gota de **látex de teste** num círculo de um cartão de reacção e 1 gota de **látex de controlo** num circulo em separado NOTA: é fundamental utilizar o **látex de controlo** para culturas de E. coli suspeitas.	**1 gota**
Passo 3	Com uma varinha de mistura, recolha um pouco da cultura tocando-lhe com a extremidade plana da vareta. Como orientação, deve ser colhida uma amostra de crescimento mais ou menos equivalente a 1 colónia grande.	**Amostra de crescimento**
Passo 4	**Emulsione** a amostra de cultura na gota de **látex de teste** esfregando com a extremidade plana da vareta. Esfregue meticulosamente, mas não com tanto vigor que danifique a superfície do cartão. Espalhe o látex de modo a cobrir o máximo possível do círculo. Ponha de parte a vareta de mistura para posterior eliminação segura.	
Passo 5	Utilizando outra vareta, **emulsione** uma amostra de cultura semelhante no **látex de controlo**.	
Passo 6	**Abane** o cartão lentamente e **observe** para detecção de sinais de aglutinação durante 20 segundos, segurando o cartão a uma distância de leitura normal (25 a 35 cm) dos olhos. Não utilize uma lupa. Os padrões obtidos são inequívocos e facilmente reconhecíveis em todas as condições de iluminação normais.	**20 segundos**
Passo 7	Ponha de parte o cartão de reacção usado para posterior eliminação segura.	

9. CONTROLO DE QUALIDADE

Os procedimentos indicados a seguir devem ser realizados inicialmente com cada fornecimento de kits de teste e com cada ensaio de amostras de teste. Em termos práticos, um ensaio pode ser definido como um período de teste de até 24 horas. Qualquer desvio em relação aos resultados de referência indica um possível problema com os reagentes, o qual deve ser resolvido antes da utilização com amostras clínicas.

INSPECÇÃO VISUAL

As suspensões de látex devem ser sempre inspeccionadas quanto a sinais de agregação à medida que são deitadas no cartão de teste, e caso haja evidências de aglomeração antes da adição da amostra de teste, a suspensão não deve ser utilizada. Após um armazenamento prolongado pode ocorrer alguma agregação ou secagem em redor da tampa do frasco. Se tal for observado, o frasco deve ser agitado vigorosamente durante alguns segundos até a ressuspensão estar concluída.

PROCEDIMENTO DE CONTROLO POSITIVO

A reactividade do teste pode ser confirmada através da adição de Controlo Positivo Polivalente num círculo de reacção, no qual a amostra de teste não tenha aglutinado o látex de teste após 3 minutos de agitação.

Passo 1	Utilize um conta-gotas descartável, para adicionar 1 gota de controlo positivo ao círculo que contém látex de teste e amostra.	**1 gota**
Passo 2	Misture com uma vareta de mistura e ponha de parte para posterior eliminação segura.	
Passo 3	Abane o cartão manualmente ou com um agitador por mais 3 minutos. Ao fim deste tempo, deve ser visível aglutinação evidente no látex de teste.	**3 minutos**
Passo 4	Ponha de parte o cartão de reacção usado para posterior eliminação segura.	

PROCEDIMENTO DE CONTROLO NEGATIVO

Se pelo menos uma amostra de teste, num procedimento ensaio, apresentar um resultado negativo com os látex de teste e de controlo (ou apenas com o látex de teste, no caso de não ter sido utilizado látex de controlo), tal constitui um controlo negativo válido para os reagentes, não sendo necessário mais testes.

Se uma amostra de teste apresentar aglutinação com o látex de teste e nenhuma aglutinação com o látex de controlo, o látex de teste deve ser testado com o Controlo Negativo ou com meio de cultura sanguínea não inoculado, conforme apropriado (consultar abaixo).

Passo 1	Coloque uma gota de látex de teste num círculo de um cartão de reacção.	**1 gota**
Passo 2	Dispense uma gota de Controlo Negativo ou meio de cultura sanguínea não inoculada junto ao látex de teste.	**1 gota**
Passo 3	Misture com uma vareta de mistura e ponha de parte para posterior eliminação segura.	
Passo 4	Agite o cartão manualmente ou com um agitador por mais 3 minutos. Ao fim deste tempo, não deve existir aglutinação significativa no látex de teste.	**3 minutos**
Passo 5	Ponha de parte o cartão de reacção usado para posterior eliminação segura.	

No caso de testes com amostras de fluidos corporais, deve ser utilizado o Controlo Negativo fornecido com o kit. No caso de testes com culturas sanguíneas, deve ser utilizada como controlo negativo uma amostra de meio de cultura sanguínea não inoculada da mesma proveniência da amostra de teste. Nota: o teste de meios não inoculados é importante dado que podem ocorrer resultados falsos positivos com algumas formulações de meios de cultura sanguínea.

Notas:

a) Se pretendido, podem ser utilizadas amostras positivas e negativas previamente testadas, divididas em alíquotas e conservadas entre –15 e –25°C ou abaixo, como controlos positivos e negativos, respectivamente. O Controlo Positivo também pode ser utilizado em vez da amostra de teste.

b) No caso de testes de identificação de colónias (apenas Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1), o desempenho dos reagentes de látex de teste e de controlo pode ser confirmado utilizando amostras colhidas recentemente, guardadas de um dia para o outro, de estirpes de referência de bactérias, seguindo o método descrito em Procedimento de Teste. As estirpes de referência adequadas são:

ATCC 13090 – N. meningitidis grupo B (reactividade positiva)

ATCC 23503 – E. coli tipo K1 (reactividade positiva)

ATCC 13077 – N. meningitidis grupo A (reactividade negativa)

ATCC 13090 e ATCC 23503 devem causar aglutinação com o látex de teste e aglutinação não significativa com o látex de controlo; ATCC 13077 não deve causar aglutinação significativa com os látex de teste e de controlo.

10. RESULTADOS

LEITURA DOS RESULTADOS

Uma reacção **positiva** é indicada pelo desenvolvimento de um padrão de aglutinação ao fim de 3 minutos (20 segundos no caso de teste de colónias) da mistura do látex com a amostra de teste, evidenciando aglomeração claramente visível das partículas de látex (Figura 1).

A rapidez de aparecimento e a qualidade da aglutinação dependem do título do antigénio, variando entre grandes aglomerados que aparecem alguns segundos após a mistura, e pequenos aglomerados que se desenvolvem bastante lentamente. Na identificação de culturas, a maioria das reacções positivas serão quase instantâneas.

Numa **reacção** negativa, o látex não aglutina e o aspecto leitoso permanece substancialmente inalterado ao longo do teste (Figura 2). Note, no entanto, que podem ser detectados vestígios ligeiros de granularidade em padrões negativos, dependendo da acuidade visual do operador. Na identificação de culturas, algumas estirpes podem causar agregação "fibrosa" do látex com um fundo leitoso; tal deve ser interpretado como uma reacção negativa.

NOTA: As partículas de látex utilizadas nas suspensões de teste e de controlo Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 não são as mesmas que as utilizadas para os outros reagentes, conferindo uma aglutinação mais precisa.

Figura 1

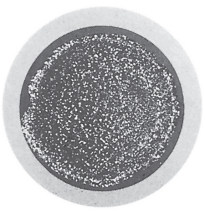
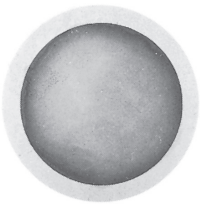


Figura 2



INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Resultado positivo

Aglutinação evidente de um único látex teste acompanhada de reacções negativas com todos os outros reagentes de látex de teste; o látex de controlo indica a presença e identidade de um antigénio bacteriano na amostra de teste. Regra geral, um resultado positivo com Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 contra uma amostra neonatal sugere infecção por E. coli K1; em pacientes mais velhos, é mais provável meningococos do grupo B.

Resultado Negativo

Reacções negativas com todos os reagentes de látex de teste indicam a ausência de um nível detectável de antigénios bacterianos no fluido de teste – não elimina a possibilidade de uma infecção causada por estes organismos, e se os sintomas persistirem pode ser útil realizar o teste em amostras subsequentes ou alternativas, ou após a concentração da amostra de urina.

No caso de uma cultura, a ausência de aglutinação em reagentes Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 indica que é improvável ser N. meningitidis do grupo B ou E. coli K1.

Resultado não interpretável

A aglutinação de mais do que um reagente de látex de teste ou de látex de teste e controlo correspondentes, indica uma reacção não específica. Na maioria dos casos, as reacções não específicas com fluidos corporais podem ser eliminadas aquecendo e clarificando a amostra[4] (consultar Preparação de Amostras Clínicas, secção 8). Se ocorrer uma reacção não específica com um sobrenadante da cultura sanguínea, aqueça a amostra num banho de água a ferver durante 5 minutos, arrefeça até à temperatura ambiente (18 a 30°C), clarifique por meio de centrifugação e repita o teste.

11. LIMITES DE DESEMPENHO

11.1 Fluidos corporais de crianças (apenas Estreptococos do Grupo B) – Podem ocorrer resultados falsos negativos com amostras contendo níveis de antigénio abaixo dos limites de detecção do dispositivo. Os resultados negativos devem ser investigados com cultura de caldo selectiva. Um resultado positivo indica a presença de antigénio de estreptococos do grupo B; o resultado não indica necessariamente a presença de organismos viáveis.

11.2 Fluidos corporais de crianças (apenas Estreptococos do Grupo B) – A utilização deste dispositivo não deve substituir a cultura microbiológica. O desempenho deste dispositivo na previsão de doença por Estreptococos do grupo B, a partir de testes realizados à urina da criança, não foi estabelecido.

11.3 As infecções por Estreptococos do grupo B ocorrem sobretudo em recém-nascidos. Os resultados positivos obtidos com amostras de fluido corporal de pacientes com mais de seis meses de idade, devem ser interpretadas com precaução. Os resultados positivos obtidos com sobrenadantes de culturas sanguíneas de pacientes de qualquer idade podem ser significativos.

11.4 Um resultado positivo no teste depende da presença de um nível detectável de antigénio no fluido corporal ou meio de cultura sanguínea.

11.5 Foram referidos alguns exemplos de bactérias não relacionadas que possuem antigénios comuns e, tal como acontece com outros sistemas de teste imunológico, não pode ser excluída a possibilidade de ocorrência de reacções cruzadas no teste de látex[1,3,8,9].

12. RESULTADOS DE REFERÊNCIA

As amostras com um nível detectável de antigénio de Estreptococos do grupo B, antigénio de H. influenzae tipo b, antigénio capsular de S. pneumoniae, antigénios de N. meningitidis A, C, Y, W135 ou antigénio de N. meningitidis B / E. coli K1 apresentarão uma reacção de aglutinação com o látex de teste apropriado.

13. 13 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

13.1 Fluídos corporais e culturas sanguíneas

Foram realizados estudos clínicos em 15 centros utilizando amostras de fluidos corporais (amostras de colheita recente e amostras conservadas congeladas) e sobrenadantes de cultura sanguínea. Nos estudos com culturas sanguíneas foram utilizadas técnicas de cultura tradicionais e radiométricas. As amostras de fluido corporal armazenadas não foram tratadas por aquecimento como descrito em Preparação de Amostras Clínicas, secção 8. Testes laboratoriais extensivos não demonstraram perda de antigénio significativa após aquecimento através deste procedimento.

Sensibilidade

A sensibilidade de cada látex no kit foi estabelecida a partir de testes realizados em amostras de culturas positivas para o organismo homólogo ou em relação às quais havia outras evidências de infecção (diagnóstico clínico mais outros testes de antigénio positivos.

As tabelas 2 a 6 mostram o número de cada tipo de amostra testado com os látex individuais, juntamente com o número de resultados positivos obtidos. A sensibilidade de cada látex na detecção de antigénio bacteriano no LCR foi de 64.3% (9/14) com o Wellcogen Strep B, 96.3% (78/81)com o Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45) com o Wellcogen S. pneumoniae, 71% (29/41) com o Wellcogen N. meningitidis ACY W135 e 62.5% (10/16) com o Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Especificidade

A especificidade de cada um dos reagentes Wellcogen foi avaliada utilizando amostras de fluido corporal (de colheita recente e congeladas) e amostras de culturas sanguíneas de pacientes com meningite bacteriana ou asséptica e outras patologias não relacionadas. Os organismos isolados a partir das amostras infectadas foram os seguintes: H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis incluindos os grupos A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, Estreptococos alfa-hemolíticos, Estreptococos beta-hemolíticos do grupo A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii e uma bactéria coliforme.

A especificidade dos cinco látex Wellcogen nos testes realizados com LCR foi superior a 98%. Os detalhes sobre o número de amostras testado e a especificidade de cada reagente Wellcogen com cada tipo de amostra são fornecidos nas tabelas 2 a 6.

13.2 Placas de cultura (N. meningitidis B/E. coli K1).

As culturas de N. meningitidis e E. coli desenvolvidas num meio de ágar enriquecido foram testadas em laboratórios hospitalares e internamente. Todas as culturas de N. meningitidis do grupo B e E. coli K1 foram correctamente identificadas. Não se verificaram reacções cruzadas com outros grupos de N. meningitidis ou outros antigénios K de E. coli (Tabela 7). Uma grande proporção das culturas de E. coli testadas com outros antigénios K apresentaram reacções não específicas (Tabela 7).

Tabela 1

Amostras avaliadas com reagentes de látex Wellcogen individuais

Amostra	Wellcogen				
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/E. coli K1
LCR	+	+	+	+	+
Urina	+	–	–	–	–
Cultura sanguínea	+	+	+	+	+
Colónias bacterianas	–	–	–	–	+

Legenda
+ Dados disponíveis para corroborar esta aplicação.
– Nenhuns dados disponíveis.

Tabela 2

Resultados de estudos clínicos com Wellcogen Strep B

	Sensibilidade[a]		Especificidade[b]	
Amostra	Nº testado	Nº positivo	Nº testado	Nº positivo
LCR	14	9	34	0
Urina	19	16	18	1[c]
Cultura sanguínea	9	9	369	4[d]

[a] Estreptococos beta-hemolíticos do grupo B isolados/indicados (diagnóstico clínico/teste com outro antigénio).
[b] Outras bactérias que não Estreptococos B/sem crescimento.
[c] P. mirabilis isolada.
[d] Staph. epidermidis; Estreptococos beta-hemolíticos do grupo A; E. coli + Enterococos; Staph. epidermidis + Enterococos isolados.

Tabela 3

Resultados de estudos clínicos com Wellcogen H. influenzae b

	Sensibilidade		Especificidade	
Amostra	Nº testado	Nº positivo	Nº testado	Nº positivo
LCR	81	78	366[a]	2[b]
Cultura sanguínea	54	54	1566[c]	5[d]

[a] Uma amostra de LCR adicional apresentou uma reacção não específica.
[b] Uma amostra asséptica; E. coli isolada de outra amostra.
[c] Dois sobrenadantes adicionais de cultura sanguínea apresentaram reacções não específicas.
[d] Uma amostra asséptica. Outras amostras desenvolveram: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; Estreptococos alfa-hemolíticos.

Tabela 4

Resultados de estudos clínicos com Wellcogen S. pneumoniae

	Sensibilidade		Especificidade	
Amostra	Nº testado	Nº positivo	Nº testado	Nº positivo
LCR	45	39	461[a]	2[b]
Cultura sanguínea	113	109	1512	7[c]

[a] Uma amostra de LCR adicional apresentou uma reacção não específica.
[b] Enterobacter aerogenes; bactéria coliforme.
[c] Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococos; Strep. viridans isolados de 4 amostras.

Tabela 5

Resultados de estudos clínicos com Wellcogen N. meningitidis ACY W135

	Sensibilidade		Especificidade	
Amostra	Nº testado	Nº positivo	Nº testado	Nº positivo
LCR	41[a]	29	423	2[b]
Cultura sanguínea	7	7	1615	2[c]

[a] Inclui 8 do grupo A, 25 do grupo C e 1 do grupo Y (as restantes não foram agrupadas).
[b] K. aerogenes; E. coli.
[c] Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococos.

Tabela 6

Resultados de estudos clínicos com Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

	Sensibilidade		Especificidade	
Amostra	Nº testado	Nº positivo	Nº testado	Nº positivo
LCR N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Cultura sanguínea: N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

[a] Amostras conservadas congeladas. Todas as outras amostras foram testadas após a colheita.
[b] Culturas aeróbias e anaeróbias (Estreptococos beta-hemolíticos do grupo A) para o mesmo paciente; Estafilococos coagulasenegativos.

Tabela 7

Identificação de culturas utilizando o Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Cultura[a]	+	–
N. meningitidis do grupo A	0	16
N. meningitidis do grupo B	10	0
N. meningitidis do grupo C	0	18
N. meningitidis do grupo 29E	0	8
N. meningitidis do grupo W135	0	7
N. meningitidis do grupo X	0	4
N. meningitidis do grupo Y	0	5
N. meningitidis do grupo Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – outros antigénios	0	13[b]

[a] Culturas identificadas por aglutinação em lamela.
[b] 10 culturas adicionais apresentaram reacções não específicas.

14. BIBLIOGRAFIA

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

Para obter assistência técnica, www.thermofisher.com

X7713E. Revisto janeiro 2025

SV

www.thermofisher.com

Europe + 800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Wellcogen Bakteriell antigen kit

REF R30859602 (ZL26) ..... Σ 30

1. AVSEDD ANVÄNDNING

Wellcogen Bakteriell antigen kit innehåller en serie av snabba latextester för användning vid kvalitativ bestämning av antigen från Streptococcus grupp B, Haemophilus influenzae typ b, Streptococcus pneumoniae (pneumococcus), Neisseria meningitidis (meningococcus) grupp A, B, C, Y eller W135 samt Escherichia coli K1 i cerebrospinalvätska (CSV) och blododling som en följd av infektion. Kitet kan också användas för att testa urinprov för av antigen från Streptococcus grupp B och för plattkulturer av N. meningitidis grupp B eller Escherichia coli K1. (Se tabell 1 för indikationer som stöds av kliniska data.)

ANMÄRKNING: Tester utförda direkt på kliniska prover är avsedda för screening-ändamål och bör komplettera, inte ersätta, odlingsprocedurer. Resultaten måste användas tillsammans med andra data, t.ex. symptom, resultat från andra tester, kliniska intryck, etc.

2. SAMMANFATTNING

Meningit har en mångfald av möjliga orsaker, såväl smittsamma som icke smittsamma. Om bakteriell meningit inte behandlas snabbt och effektivt är sjukdomen sannolikt dödlig. Tidig identifiering av smittämnet kan ha stort värde för behandlingen av patienten med lämplig och adekvat kemoterapi. Många bakteriearter har implicerats i meningit. Streptococcus grupp B och E. coli K1 är två av de vanligaste orsakerna till neonatal sepsis medan de vanligaste isolaten i äldre åldersgrupper är H. influenzae typ b, S. pneumoniae och N. meningitidis grupp A, B, C, Y och W135. Dessa organismer bär specifika polysackaridytantigener i en mängd som diffunderar in i odlingssubstrat eller kroppsvätskor såsom CSV eller serum och utsöndras i urinen. Antigenerna kan detekteras med känsliga immunologiska metoder såsom counterimmuno-elektrofores och latexagglutinering[2,5,6,10].

3. PRINCIP FÖR TESTET

Wellcogen-reagenserna består av polystyrenlatexpartiklar som har belagts med antikroppar mot de bakteriella antigenerna. Dessa latexpartiklar agglutinerar vid närvaro av tillräcklig homolog antigen. Reagenserna Streptococcus och H. influenzae är specifika för grupp B respektive typ b. Reagensen S. pneumoniae är sensibiliserad med antikroppar som renats från ett omnivalent serum och den polyvalenta reagensen N. meningitidis reagerar med antigener av grupp A, C, Y och W135. Antigen Meningococcus grupp B är svårare att detektera[6] och är strukturellt och immunologiskt besläktad med antigen E. coli K1[7]. Båda dessa reagerar med N. meningitidis grupp B reagensen

4. DEFINITIONER AV SYMBOLER

REF	Katalognummer
IVD	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Se bruksanvisningen (IFU)
	Temperaturbegränsningar
Σ N	Innehåller tillräckligt för <N> test
LOT	Partikod
	Bäst före (utgångsdatum)
	Importör
EC REP	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen
UK CA	Bedömning av överensstämmelse, Storbritannien
CE	EU-bedömning av överensstämmelse
	Tillverkare

5. KITETS INNEHÅLL, BEREDNING FÖR ANVÄNDNING, FÖRVARING

Wellcogen Bakteriell antigen kit innehåller tillräckligt med reagenser för att utföra 30 tester.

Se även **Försiktighetsåtgärder**, sektion **6**.

Alla komponenter ska förvaras vid 2-8 °C, vid dessa förhållande kommer de att behålla deras aktivitet fram till kitets utgångsdatum.

Före användning, låt alla reagenser uppnå rumstemperatur (18-30 °C) och blanda försiktigt. Ställ tillbaka oanvända reagenser i kylen efter användning

Bruksanvisning

Reaktionskort för engångsbruk (2 askar)
Blandningsstickor för engångsbruk (5 buntar)
Droppflaskor för engångsbruk (1 behållare)
Svart gummituta (1)

TEST LATEX **Testlatex**

Strep. B (rosa lock)
H. influenzae b (ljusblått lock)
S. pneumoniae (gult lock)
N. meningitidis ACY W135 (grått lock)
N. meningitidis B/E. coli K1 (brunt lock)

Fem droppflaskor, var och en specifik för enav de ovanstående grupperna, innehållande 0,5 % suspensioner av polystyrenlatexpartiklar i buffert med 0,05 % Bronidox® och/eller 0,1 % natriumazid som konserveringsmedel. Latexpartiklarna är belagda med lämplig antikropp från kanin, enligt märkning, utom för reagensen N. meningitidis grupp B/E. coli K1, vilken är belagd med monoklonal antikropp från murin (mus/råtta).

CONTROL LATEX **Kontrollatex**

Fem droppflaskor (mörkblått lock) innehållande 0,5 % suspensioner av polystyrenlatexpartiklar i buffert med 0,05 % Bronidox® och/eller 0,1 % natriumazid somkonserveringsmedel. Latexpartiklarna är belagda med en lämplig beredning av kaninglobulin eller när det gäller latex för N. meningitidis grupp B/E. coli K1, en monoklonal antikropp från murin (mus/råtta) mot Bordetella bronchiseptica.

Latexsuspensionerna levereras färdiga att använda och ska förvaras vid 2-8 °C i upprätt position fram till kitets utgångsdatum. Efter en längre tids förvaring kan en viss hopklumpning eller torkning av latexen inträffa längst upp i flaskan. Skaka i så fall flaskan kraftigt i några sekunder tills suspensionen har återställts. FÅR INTE FRYSAS.

CONTROL + **Polyvalent positiv kontroll**

Två flaskor (blå lock) innehållande frystorkade bakterieextrakt med antigener från representativa stammar av de bakteriearter för vilka latex tillhandahålls. Innehåller 0,01 % bronopol före rekonstituering och 0,004 % efteråt.

Rekonstituera med 3,6 ml sterilt, destillerat vatten. När vattnet har tillsatts, låt flaskan stå några minuter och snurra sedan flaskan för att blanda innehållet. Förvara rekonstituerad antigen vid 2-8 °C i upp till 6 månader.

CONTROL − **Negativ kontroll**

En droppflaska (vitt lock) innehållande glycinsalinbuffert, pH 8,2, med 0,05 % Bronidox® som konserveringsmedel.

6. FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

IVD

Reagenserna är endast avsedda för in vitro diagnostik.

Endast för professionell användning.

Se databladet om materialsäkerhet (MSDS) och produktmärkning för information om potentiellt farliga komponenter.

INFORMATION OM HÄLSA OCH SÄKERHET

6.1 Test- och Kontrollatexen för Streptococcus grupp B, H. influenzae typ b, S. pneumoniae och N. meningitidis ACY W135 innehåller 0,1 % natriumazid. Azider kan reagera med koppar och bly i vissa rörledningssystem och bilda explosiva salter. Mängderna som används i detta kit är små, men vid kassering av alla material som innehåller azid ska de spolas bort med rikliga mängder vatten.

6.2 Enligt principerna för god laboratoriesed rekommenderar vi bestämt att kroppsvätskor behandlas som potentiellt smittsamma och hanteras enligt lämpliga försiktighetsåtgärder.

6.3 Vid hantering av radiometriska blododlingssubstrat ska grundläggande säkerhetsföreskrifter om strålskydd följas. Dessa omfattar:

a) Radioaktiva material ska förvaras på en härför avsedd plats i en godkänd behållare.
b) Hantering av radioaktivitet ska utföras på en härför avsedd plats.
c) Radioaktivt material får inte pipetteras med munnen.
d) Ät, drick och rök inte på den avsedda arbetsplatsen.
e) Efter användning av radioaktivt material ska händerna tvättas noga.
f) Rådfråga den lokala strålskyddschefen om krav vad gäller kassering.

6.4 Återanvändbar utrustning ska steriliseras med någon lämplig metod efter användning. Den rekommenderade metoden är dock autoklavering i 15 minuter vid 121 °C. Engångsprodukter bör autoklaveras eller brännas. Utspill av potentiellt smittsamma material ska omedelbart torkas upp med absorberande papper och det kontaminerade området ska rengöras/svabbas med ett vanligt bakteriedödande desinficeringsmedel eller 70 % alkohol. Använd INTE natriumhypoklorit. Material som används för att rengöra utspill, inklusive handskar, ska kasseras som biologiskt riskavfall.

6.5 Pipettera inte material med munnen. Använd engångshandskar och ögonskydd vid hantering av prover och när analysen utförs. Tvätta händerna noga efteråt.

6.6 De levererade reagenserna anses inte utgöra någon hälsorisk vid användning enligt principerna för god laboratoriesed, med god hygienisk standard på arbetsplatsen och enligt instruktionerna i denna bruksanvisning.

ANALYTISKA FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

6.7 Produkten får inte användas efter angivet utgångsdatum.

6.8 Latexreagenser ska uppnå rumstemperatur (18-30 °C) före användning. Latexreagenser som visar tecken på hopklumpning kan ha varit frysta och får inte användas.

6.9 Vid användning av droppflaskor är det viktigt att hålla dem vertikalt och att dropparna bildas vid munstyckets spets. Om munstycket blir vått kommer en felaktig volym att bildas vid änden och inte vid spetsen. Torka i så fall av munstycket innan du fortsätter.

6.10 Reagenserna i varje kit matchar varandra vad det gäller prestanda och bör inte användas med reagenser från ett kit som har ett annat lotnummer.

6.11 Vidrör inte kortens reaktionsområden.

6.12 Mekanisk rotator kan användas vid denna analys. Följande karakteristika har befunnits vara tillfredsställande:

i) Orbitala rotatorer (även kända som dimensionsrotatorer) som arbetar vid 25 varv/minut med en ungefärlig rotationsvinkel på 9-10,5 grader eller vid 18 varv/minut med en rotationsvinkel på 16-17,5 grader.

6.13 Undvik mikrobial kontaminering av reagenser eftersom detta kan leda till felaktiga resultat.

7. INSAMLING OCH FÖRVARING AV PROVER

7.1 Prover som består CSV eller urin bör testas så snart som möjligt efter insamling. Om vätskan inte kan testas omedelbart kan den förvaras över natten vid 2-8 °C, eller fryst vid –15 till –25 °C för en längre period. Om bakteriologiska analyser ska utföras på provet bör dessa utföras före latextestet för att undvika kontaminering av provet.

7.2 Blododlingar kan samlas och testas efter 18-24 timmars inkubation vid 37 °C och/eller så snart bakteriell tillväxt observeras.

7.3 Plattkulturer (endast N. meningitidis B/E. coli K1). Isolerade kolonier som växer på berikade agarsubstrat (t.ex. blod, chokladagar) kan testas efter inkubation över natt vid 37 °C. En gramfärgning bör utföras för att underlätta tolkningen av resultatet från latextestet.

8. TESTPROCEDUR

ERFORDERLIGT MATERIAL SOM MEDFÖLJER

Se **Kitets innehåll**, sektion **5**.

ERFORDERLIGT MATERIAL SOM EJ MEDFÖLJER

Kokande vattenbad

Laboratoriecentrifug eller membranfilter (0,45 µm)

Rotator (valfritt, se **Försiktighetsåtgärder**, sektion **6**)

BEREDNING AV KLINISKA PROVER

8.1 Prover som består CSV eller urin måste värmas före testning med Wellcogen-proceduren för att minimera ickespecifika reaktioner[4,6]. Följande procedurer rekommenderas:

a) Värm provet i 5 minuter i ett kokande vattenbad. Kyl provet till rumstemperatur (18-30 °C) och klargör genom centrifugering eller membranfiltrering (0,45 µm) före testning. För maximal känslighet kan urinprover koncentreras upp till 25 gånger i en koncentrator av typ Minicon® B-15. Klargör enligt ovan före testning.

8.2 Blododlingar. Centrifugera ett prov på 1-2 ml för att pelletera de röda blodkropparna, till exempel vid 1000 G i 5-10 minuter. Utför latextestet på supernatanten. Om en icke-specifik reaktion inträffar med en blododlingsupernatant (se **Tolkning av resultat**, sektion **10**): värm provet i ett kokande vattenbad i 5 minuter, kyl till rumstemperatur (18-30 °C), klargör genom centrifugering och upprepa testet.

8.3 Plattkulturer (endast N. meningitidis B/E. coli K1). Testa direkt från odlingsplattan.

PROCEDUR

Vi rekommenderar att sektionen om **Försiktighetsåtgärder**, sektion **6**, läses noga innan testet utförs.

Prover bestående av kroppsvätskor och blododlingsupernatanter:

ANMÄRKNING: Om endast en begränsad volym av provet är tillgänglig bör det först testas med Testlatexen och om ett positivt resultat erhålls bör provet testas med lämplig Kontrollatex. Om det finns tillräckligt med prov bör det testas mot både Test- och Kontrollatex samtidigt.

Steg 1	Behandla provet enligt beskrivning nedan **Beredning av kliniska prover.**	
Steg 2	Skaka latexreagenserna.	
Steg 3	Placera 1 droppe av varje **Testlatex** eller **Kontrollatex** i en separat cirkel på ett Reaktionskort. Var noga med att hålla droppflaskorna vertikalt för att dispensera en noggrann droppe. (Se **Försiktighetsåtgärder**, sektion **6**.)	**1 droppe**
Steg 4	Med en droppflaska för engångsbruk, dispensera (cirka 40 µl) **prov** intill varje droppe av latex.	**1 droppe**
Steg 5	**Blanda** innehållet i varje cirkel med en blandningssticka och sprid ut för att täcka hela området av cirkeln. Använd en separat sticka för varje cirkel och kassera den på ett säkert sätt efter användning.	
Steg 6	**Rotera** kortet sakta och **observera** med avseende på agglutinering i 3 minuter medan du håller kortet på normalt läsavstånd (25-35 cm) från ögonen. Använd inte ett förstoringsglas. Mekanisk rotation (3 minuter) kan användas (se **Försiktighetsåtgärder**, sektion **6**). Mönstren som erhålls är skarpa och kan tydas under alla normala belysningsförhållanden.	**3 min**
Steg 7	Kassera det använda reaktionskortet på ett säkert sätt.	

Plattkulturer:
(endast Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1):

Steg 1	Skaka latexreagenserna.	
Steg 2	För varje stam som ska testas, placera 1 droppe av **testlatex** i en cirkel på ett reaktionskort och 1 droppe **kontrollatex** i en separat cirkel. ANMÄRKNING: Det är viktigt att använda kontrollatexen för misstänkta E. coli-stammar	**1 droppe**
Steg 3	Ta en Blandningssticka och plocka upp lite av stammen genom att vidröra den med stickans flata ände. Som vägledning på hur stor mängd av bakteriestam som behövs, så ska den motsvara en en stor koloni.	**Prov på tillväxt**
Steg 4	**Rör ut** bakteriestammen i droppen av **testlatex** genom att gnida stickans flata ände mot reagenskortet. Gnid noga, men inte så kraftig att kortets yta skadas. Sprid ut latexen för att täcka så mycket som möjligt av cirkeln. Kassera blandningsstickan på ett säkert sätt.	
Steg 5	Ta en ny sticka, **och rör på liknande sätt ut** bakteriestammen i **kontrollatexen**.	
Steg 6	**Rotera** kortet sakta och **observera** med avseende på agglutinering i 20 sekunder medan du håller kortet på normalt läsavstånd (25-35 cm) från ögonen. Använd inte ett förstoringsglas. Mönstren som erhålls är skarpa och kan enkelt tydas under alla normala belysningsförhållanden.	**20 sek**
Steg 7	Kassera det använda reaktionskortet på ett säkert sätt.	

9. KVALITETSKONTROLL

Följande procedurer bör utföras initialt med varje leverans av testkit och vid varje testning av prov. En körning kan i praktiken definieras som en testperiod på upp till 24 timmar. Varje avvikelse från de förväntade resultaten indikerar att ett problem kan föreligga med reagenserna, vilket måste lösas före fortsatt användning av kliniska prover.

VISUELL INSPEKTION

Latexsuspensionerna bör alltid inspekteras avseende hopklumpning när de droppas på testkortet och om klumpar observeras före tillsättning av prov får suspensionen inte användas. Efter en längre tids förvaring kan en viss hopklumpning eller torkning inträffa längst upp i flaskan. Skaka i så fall flaskan kraftigt i några sekunder tills suspensionen har återställts.

POSITIV KONTROLLPROCEDUR

Testets reaktivitet kan verifieras genom tillsättning av Polyvalent positiv kontroll i en reaktionscirkel i vilken provet inte har agglutinerat i testlatexen efter 3 minuters rotation.

Steg 1	Använd en droppflaska för engångsbruk för att tillsätta 1 droppe positiv kontroll i cirkeln som innehåller testlatex och prov.	**1 droppe**
Steg 2	Blanda med en blandningssticka och kassera den på ett säkert sätt.	
Steg 3	Rotera kortet manuellt eller med en rotator i ytterligare 3 minuter. Efter denna tid bör en tydlig agglutinering vara synlig i testlatexen.	**3 min**
Steg 4	Kassera det använda Reaktionskortet på ett säkert sätt.	

NEGATIV KONTROLLPROCEDUR

Om minst ett prov inom en körning ger ett negativt resultat med testoch kontrollatex, eller med endast testlatex om ingen kontrollatex har använts, utgör detta en giltig negativ kontroll för reagenserna och ingen ytterligare testning är nödvändig.

Om ett prov ger agglutination med testlatexen och ingen agglutination med kontrollatexen bör testlatexen testas med ett lämligt antingen, den negativa kontrollen eller med oinokulerat blododlingssubstrat (se nedan).

Steg 1	Placera en droppe testlatex i en cirkel på ett reaktionskort.	**1 droppe**
Steg 2	Dispensera en droppe negativ kontroll eller oinokulerat blododlingssubstrat intill testlatexen.	
Steg 3	Blanda med en blandningssticka och kassera den på ett säkert sätt.	
Steg 4	Rotera kortet manuellt eller med en rotator i ytterligare 3 minuter. Efter denna tid bör det inte finnas någon signifikant agglutinering i testlatexen.	**3 min**
Steg 5	Kassera det använda Reaktionskortet på ett säkert sätt.	

För testning av prover som består CSV eller urin bör den negativa kontrollen som medföljer i kitet användas.

För testning av blododlingar bör ett prov av oinokulerat blododlingssubstrat, från samma källa som provet, användas som en negativ kontroll. Anmärkning: Testning av oinokulerade substrat är viktig eftersom falska positiva resultat kan erhållas med vissa formuleringar av blododlingssubstrat.

Anmärkningar:

a) Tidigare analyserade positiva och negativa prover, alikvoterade och förvarade vid –15 till –25 °C eller därunder, kan användas som positiva respektive negativa kontroller om så önskas. Den Positiva kontrollen kan också användas i stället för ett prov

b) För koloniidentifiering (endast Wellcogen N. meningitidis B/ E. coli K1) kan prestandan hos test- och kontrollatexreagenserna verifieras med dygnsfärska kulturer med referensstammar genom att följa den metod som beskrivs under testprocedur. Lämpliga referensstammar är:

ATCC 13090 – N. meningitidis grupp B (positiv reaktivitet)

ATCC 23503 – E. coli typ K1 (positiv reaktivitet)

ATCC 13077 – N. meningitidis grupp A (negativ reaktivitet)

ATCC 13090 och ATCC 23503 bör ge agglutinering med testlatexen och ingen signifikant agglutinering med kontrollatexen.

ATCC 13077 bör inte ge någon signifikant agglutinering med varken test- eller kontrollatexen.

10. RESULTAT

AVLÄSNING AV RESULTAT

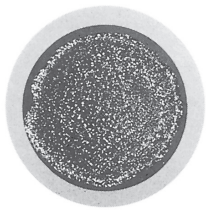
En positiv reaktion är när det sker en agglutination inom 3 minuter (20 sekunder för kolonitestning) när latexen blandas med provet, det visar en tydlig hopklumpning av latexpartiklarna (figur 1). Hastigheten i utvecklingen och kvaliteten hos agglutineringen beror på antigenens styrka, och varierar från stora klumpar som visar sig inom några sekunders blandning till småklumpar som utvecklas ganska långsamt. Vid kulturidentifiering är de flesta positiva reaktioner nästan omedelbara.

Vid en negativ reaktion agglutineras inte latexen och det mjölkiga utseendet förblir i huvudsak oförändrat under testet (figur 2).

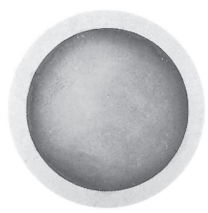
Observera dock att svaga spår av kornighet kan detekteras i negativa mönster, beroende på operatörens synskärpa. Vid kulturidentifiering kan vissa stammar orsaka en “trådig” hopklumpning av latexen mot en mjölkig bakgrund; vilket bör tolkas som en negativ reaktion.

ANMÄRKNING: Latexpartiklarna som används i Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 test- och kontrollatexsuspensioner är inte desamma som de som används för de andra reagenserna och ger en finare agglutinering.

Figur 1



Figur 2



TOLKNING AV RESULTAT

Positiva resultat

Tydlig agglutinering av en enda testlatex åtföljd av negativa reaktioner med övriga testlatexreagenser och kontrollatex indikerar på förekomst av och identitet hos en bakteriell antigen i testprovet. Som en allmän regel antyder ett positivt resultat med Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 mot ett neonatalt prov infektion av E. coli K1. För äldre patienter är meningococcus grupp B mer trolig.

Negativa resultat

Negativa reaktioner med alla testlatexreagenser indikerar på frånvaro av en detekterbar nivå av de bakteriella antigenerna i testvätskan. Detta eliminerar dock inte möjligheten för en infektion orsakad av dessa organismer, och om symptomen kvarstår kan det vara önskvärt att utföra testet på efterföljande eller alternativa prover, eller efter koncentration av urinprov.

För en kultur som indikerar brist på agglutinering i Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1-reagenser är sannolikt inte en N. meningitidis grupp B eller E. coli K1.

Otydbara resultat

Agglutinering av mer än en testlatexreagens eller motsvarande testoch kontrollatex indikerar på en icke-specifik reaktion. I de flesta fall kan icke-specifika reaktioner med kroppsvätskor elimineras genom uppvärmning och centrifugering av provet4 (se Beredning av kliniska prover, sektion 8). Om en icke-specifik reaktion inträffar med en blododling-supernatant: värm provet i ett kokande vattenbad i 5 minuter, kyl till rumstemperatur (18-30 °C), klargör genom centrifugering och upprepa testet.

11. BEGRÄNSNINGAR I PRESTANDA

11.1 **Kroppsvätskor från spädbarn** (endast Strep. grupp B) – Falska negativa testresultat kan förekomma med prover som innehåller nivåer av antigen under detekteringsgränserna för detta test. Negativa resultat bör följas upp med selektiv buljongodling. Ett positivt resultat indikerar på förekomst av antigen Streptococcus grupp B. Resultatet indikerar inte nödvändigtvis på förekomst av livsdugliga organismer.

11.2 **Kroppsvätskor från spädbarn** (endast Strep. grupp B) – Användning av detta test bör inte ersätta en mikrobiologisk odling. Prestandan hos detta test för att förutspå sjukdom med Streptococcus grupp B från tester av spädbarnsurin har inte fastställts.

11.3 Infektioner av Streptococcus grupp B uppträder primärt hos nyfödda. Positiva resultat erhållna med prover bestående av kroppsvätska från patienter över sex månaders ålder bör tolkas med försiktighet. Positiva resultat erhållna med blododlingsupernatanter från patienter oavsett ålder kan vara signifikanta.

11.4 Ett positivt resultat i testet beror på förekomsten av en detekterbar nivå av antigen i kroppsvätskan eller blododlingssubstratet.

11.5 Begränsade kliniska data är tillgängliga för detektering av antigen i urin eller serum med Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 (tabell 6). Inga kliniska data är tillgängliga för detektering av antigen i urin med Wellcogen N. meningitidis ACY W135 (tabell 5). Antigen har dock rapporterats i ACY W135-urinprover[5].

11.6 Ett fåtal exempel har rapporterats om orelaterade bakterier som besitter vanliga antigener varför, som med alla immunologiska testsystem, möjligheten att korsreaktioner inträffar i latextestet inte kan uteslutas[1,3,8,9].

12. FÖRVÄNTADE RESULTAT

12.1 Prover innehållande en detekterbar nivå av grupp B streptokock antigen, H. influenzae typ b antigen, S. pneumoniae kapsulär antigen, N. meningitidis A, C, Y, W135 antigener eller N. meningitidis B / E. coli K1 antigen ger en agglutineringsreaktion med lämplig testlatex.

13. TESTETS KARAKTERISTIKA

13.1 Kroppsvätskor och blododlingar

13.2 Kliniska studier utfördes vid 15 centra med prover av kroppsvätska (färska och frysförvarade) och blododlingsupernatanter. Både traditionella och radiometriska odlingsmetoder användes i blododlingsstudierna. Lagrade prover av kroppsvätska värmebehandlades inte såsom beskrivs under **Beredning av kliniska prover**, sektion **8**. Omfattande laboratorietestning har inte påvisat någon signifikant förlust av antigen efter värmning med denna procedur.

Känslighet

Känsligheten hos varje latex i kitet fastställs genom tester på odlingspositiva prover av den homologa organismen eller för vilka det fanns andra belägg för infektion (klinisk diagnos plus andra antigentestpositiva prover).

Tabellerna 2 till 6 visar antalet av varje typ av prov som testades med de enskilda latexen tillsammans med det erhållna antalet positiva resultat. Känsligheten hos varje latex för detektering av bakteriell antigen i CSV var 64.3% (9/14) för Wellcogen Strep. B, 96.3% (78/81) för Wellcogen H. influenzae b, 86.7% (39/45) för Wellcogen S. pneumoniae, 71 % (29/41) för Wellcogen N. meningitidis ACY W135 och 62.5% (10/16) för Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Specificitet

Specificiteten hos var och en av Wellcogen-reagenserna utvärderades genom att använda prover av kroppsvätska (färska och frysta) och blododlingsprover från patienter med bakteriell eller aseptisk meningit och andra orelaterade tillstånd. Organismerna som isolerades från de infekterade proverna var H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis inklusive grupperna A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, alfa-hemolytisk streptococcus, beta-hemolytisk streptococcus grupp A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii och en koliform bakterie.

Specificiteten hos alla fem Wellcogen-latexen i test på CSV var över 98 %. Detaljer om antalet testade prover och specificiteten hos varje Wellcogen med varje typ av prov anges i tabellerna 2 till 6.

13.3 Plattkulturer (N. meningitidis B/E. coli K1).

N. meningitidis och E. coli odlade på ett berikat agarsubstrat testades på sjukhuslaboratorier och internt. Alla odlingar av N. meningitidis grupp B och E. coli K1 identifierades korrekt. Det förelåg inga korsreaktioner med andra grupper av N. meningitidis eller andra E. coli K antigener (tabell 7). En hög andel av E. coli-kulturer med andra K-antigen, som testades, gav icke-specifika reaktioner (tabell 7).

Tabell 1.

Prover som har utvärderats med individuella Wellcogen latexreagenser

	Prov	Wellcogen			
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumoniae	N. meningitidis ACY W135	N. meningitidis B/ E. coli K1
CSV	+	+	+	+	+
Urin	+	–	–	–	–
Blododling	+	+	+	+	+
Bakteriekolonier	–	–	–	–	+

Förklaring
+ Data är tillgängliga som stöd för denna applikation.
– Inga data är tillgängliga.

Tabell 2.

Resultat från kliniska studier av Wellcogen Strep. B

	Känslighet[a]		Specificitet[b]	
Prov	Ant. testade	Ant. positiva	Ant. testade	Ant. positiva
CSV	14	9	34	0
Urin	19	16	18	1[c]
Blododling	9	9	369	4[d]

[a] beta-hemolytisk streptococcus grupp B isolerade/indikerade (klinisk diagnos/annat antigentest).
[b] Andra bakterier än Strep. B/ingen tillväxt.
[c] P. mirabilis isolerad.
[d] Staph. epidermidis, beta-hemolytisk strep. grupp A, E. coli + Enterococcus, Staph. epidermidis + Enterococcus isolerade.

Tabell 3.

Resultat från kliniska studier av Wellcogen H. influenzae b

	Känslighet		Specificitet	
Prov	Ant. testade	Ant. positiva	Ant. testade	Ant. positiva
CSV	81	78	366[a]	2[b]
Blododling	54	54	1566[c]	5[d]

[a] Ett ytterligare CSV-prov gav en icke-specifik reaktion.
[b] Ett prov aseptiskt, E. coli isolerad från övriga prov.
[c] Två ytterligare blododling-supernatanter gav icke-specifika reaktioner.
[d] Ett prov aseptiskt. Övriga prover visade tillväxt: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis, K. oxytoca, alfa-hemolytisk streptococcus.

Tabell 4.

Resultat från kliniska studier av Wellcogen S. pneumoniae

	Känslighet		Specificitet	
Prov	Ant. testade	Ant. positiva	Ant. testade	Ant. positiva
CSV	45	39	461[a]	2[b]
Blododling	113	109	1512	7[c]

[a] Ett ytterligare CSV-prov gav en icke-specifik reaktion.
[b] Enterobacter aerogenes, koliform bakterie.
[c] Pseudomonas, Strep. sanguis, Staph. epidermidis + Enterococcus, Strep. viridans isolerade från 4 prover.

Tabell 5.

Resultat från kliniska studier av Wellcogen N. meningitidis ACY W135

	Känslighet		Specificitet	
Prov	Ant. testade	Ant. positiva	Ant. testade	Ant. positiva
CSV	41[a]	29	423	2[b]
Blododling	7	7	1615	2[c]

[a] Omfattar 8 grupp A, 25 grupp C och 1 grupp Y (de återstående grupperades inte).
[b] K. aerogenes, E. coli.
[c] Strep. sanguis, Staph. epidermidis + Enterococcus.

Tabell 6.

Resultat från kliniska studier av Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

	Känslighet		Specificitet	
Prov	Ant. testade	Ant. positiva	Ant. testade	Ant. positiva
CSV N. meningitidis B	10	6	102	0
E. coli K1[a]	6	4	102	0
Blododling: N. meningitidis B	7	5	461	3[b]

a Prover förvarade frysta. Alla övriga prover testades färska.
b Aeroba och anaeroba odlingar (beta-hemolytisk Strep. A) för samma
patient, koagulasnegativ staphylococcus.

Tabell 7.

Identifiering av odlingar med Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

Odling[a]	+	–
N. meningitidis grupp A	0	16
N. meningitidis grupp B	10	0
N. meningitidis grupp C	0	18
N. meningitidis grupp 29E	0	8
N. meningitidis grupp W135	0	7
N. meningitidis grupp X	0	4
N. meningitidis grupp Y	0	5
N. meningitidis grupp Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – övriga antigener	0	13[b]

[a] Odlingar identifierade genom agglutinering på objektglas.
[b] Ytterligare 10 odlingar gav icke-specifika reaktioner.

14. REFERENSER

1. Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive 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. Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
4. Doskeland, S.O. and Berdal, 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., Asznowicz, 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 07: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.

Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

För teknisk assistans, www.thermofisher.com

X7713E. Reviderad Januari 2025