



Alere™
PBP2a SA Culture Colony Test



PBP2a SA Culture Colony Test

Intended Use

The Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test is a qualitative, *in vitro* immunochromatographic assay for the rapid detection of penicillin-binding protein 2a (PBP2a) in isolates identified as *Staphylococcus aureus* as an aid in identifying methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Summary and Explanation of Test

Early detection of methicillin-resistant Staphylococcal infections is known to reduce health care costs, critical in efforts to decrease patient morbidity and mortality, reduce empiric use of vancomycin and permits cost-effective decisions for optimal patient management.¹

Conventional methods of antimicrobial susceptibility testing can take over 24 hours, and *mecA* gene identification is expensive and time-consuming to perform. However, penicillin-binding protein 2a (PBP2a) detection has the advantage over *mecA* in identifying strains that not only harbor the *mecA* gene but also produce the protein that confers resistance to methicillin.

The Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test provides a simple and rapid method to detect the PBP2a protein found in isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.


Principles of Procedure

The Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test is a rapid immunochromatographic membrane assay that uses highly sensitive recombinant monoclonal antibody fragments (rFabs) to detect the PBP2a protein directly from bacterial isolates. The rFab and a control protein are immobilized onto a nitrocellulose membrane as two distinct lines and combined with a sample pad, a pink/purple conjugate pad, and an absorption pad to form a test strip.

Isolates are sampled directly from the culture plate and eluted into an assay tube containing Reagent 1. Reagent 2 is then added and the test strip is placed in the assay tube. Results are read visually at 5 minutes.

Reagents and Materials

Materials Provided in the Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kit

- **Test Strips:** A test strip covered with a plastic overlay with directional arrows to indicate testing position.
- **Reagent 1:** A clear, blue alkaline solution. 
- **Reagent 2:** A clear, slightly acidic solution containing sodium azide buffer and surfactants.
- **Assay Tubes**
- **Test Racks**

Materials Required, But Not Provided:

Clock, timer or stopwatch, bacteriological loops, vortex mixer and external positive and negative control strains.


External Positive and Negative Controls

The recommended controls are listed below. Alternatively, laboratories may use resistant and sensitive *S. aureus* strains routinely used, providing control results are as expected.

Positive control: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negative control: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Precautions

1. For *in vitro* diagnostic use only.
2. If refrigerated, allow all kit components to equilibrate to room temperature (15-30°C) before use.
3. Leave test strip sealed in its foil pouch until just before use.
4. Avoid skin and eye contact with reagents and test strip.
5. Do not use kit past its expiration date.
6. Do not interchange or mix components from different kit lots.
7. As with all bacterial samples, controls and test strips may contain pathogenic organisms; handle with appropriate precautions and dispose of materials safely in biohazard waste receptacles.
8. The Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test should be performed only on isolates of *Staphylococcus aureus*.
9. Reagent 1 contains sodium hydroxide
DANGER: Causes severe skin burns and eye damage. 
10. Safety Data Sheets for this product are available upon request.
11. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations.
12. Reagent 2 contains sodium azide.

Storage and Stability

Store kit components at room temperature or under refrigeration (2-30°C).

The Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kit and reagents are stable until the expiration dates marked on their outer packaging.

Quality Control

Daily Quality Control:

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test has built-in positive and negative procedural controls. For quality control, Alere suggests that you record these controls for each test run.

Procedural Controls:

- A. The appearance of a pink/purple line at the “control line” position can be considered an internal positive procedural control. If capillary flow has occurred, this line will always appear.
- B. In comparison to the color of the control line, the background color on the test strip should be white within 5 minutes.

External Positive and Negative Controls:

Good laboratory practice suggests the use of positive and negative controls to ensure that:

- test reagents are working, and
- the test is correctly performed.

For each new lot, external positive and negative controls should be tested. These will monitor the entire assay. The results of these control samples should be recorded. Please refer to the Sample Preparation Procedure section for further instructions.

The recommended controls are listed below. Alternatively, laboratories may use resistant and sensitive *S. aureus* strains routinely used, providing control results are as expected.

Recommended Control Strains:

Positive control: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Negative control: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Other controls may be tested in order to conform with,

- local, state, and/or federal regulations,
- accrediting groups, and/or,
- your laboratory's standard Quality Control procedures.

If the correct control results are not obtained, do not report results. Contact Technical Support (please refer to the Ordering and Contact Information section).

Specimen Collection and Handling

Specimens are bacterial isolates of *Staphylococcus aureus*. The use of fresh (<24 hours) cultures is recommended. The performance of the Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test has not been established for use with refrigerated specimens.

Culture Media

S. aureus colonies may be tested from any of the following culture media:

- Tryptone Soy Agar (Tryptic Soy Agar) with 5% sheep blood (TSA blood)
- Columbia Agar with 5% sheep blood
- Mueller Hinton Agar

Control Procedures

1. Subculture the control strain onto a culture plate. Incubate the plate overnight at 33-35°C for 18-24 hrs.
2. Follow Assay Procedure below.

Assay Procedure

If refrigerated, allow reagents and test strips to equilibrate to room temperature (15-30°C) before testing.

The test can be performed from well-isolated colonies on the primary plate if there is sufficient growth, or from a subculture of the isolate.

1. Holding the dropper bottle vertically, add two drops of Reagent 1 to an assay tube.
2. Take one heaped 1 µl bacteriological loop (a heavy inoculum) of sample from well-isolated colonies on the culture plate, place into the tube and thoroughly mix.
3. Holding the dropper bottle vertically, add two drops of Reagent 2 to the tube.
4. Vortex briefly. The blue solution must turn a clear color (if the color does not change, add one more drop of Reagent 2 and mix until the sample turns clear).
5. Insert the test strip into the assay tube with arrows pointed downward.
6. At five (5) minutes, withdraw the test strip from the tube and read the assay result.

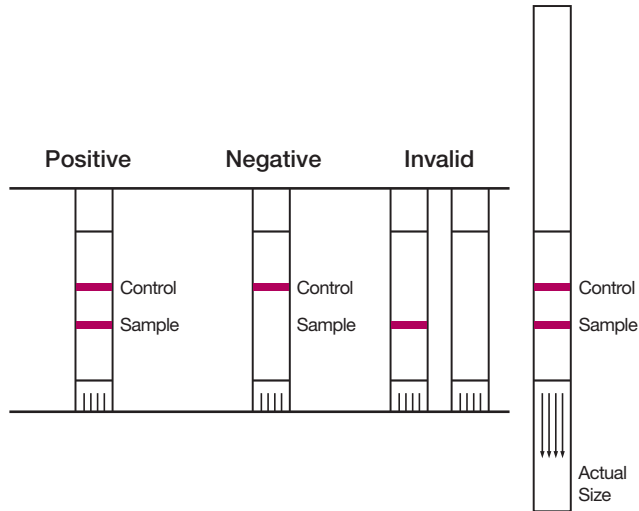
Result Interpretation

For help in reading the test strip, refer to the Result Interpretation Graphic.

For a **Negative Sample**, a PINK/PURPLE Control Line appears in the top half of the test strip. No other line appears.

For a **Positive Sample**, the PINK/PURPLE Control Line appears AND a second PINK/PURPLE Sample Line appears below it in the bottom half of the test strip. Any Sample Line, even when very faint, is positive.

A test is **Invalid** if the PINK/PURPLE Control Line does not appear, whether a Sample Line is present or not. Repeat invalid tests with a new test strip. Call Alere™ Technical Support if the problem persists.



Reporting of Results

Result	Suggested Report
Positive	Positive for PBP2a
Negative	Negative for PBP2a
Invalid	Indeterminate; do not report. Re-test sample and contact Alere™ Technical Service Support if problem persists.

Clinical Performance

The clinical performance of the Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test was established in a multi-center clinical study conducted in 2013 at three (3) geographically diverse laboratories.

A total of 454 *S. aureus* samples were evaluated in the Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, compared to results of 30 µg cefoxitin disk diffusion and interpreted according to CLSI standards. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test performance versus cefoxitin disk diffusion, including 95% confidence intervals and stratified by plate type, is provided in Table 1.

All positive and negative daily controls generated the expected results.

Table 1: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Performance vs. Cefoxitin (30 µg) Disk Diffusion in *S. aureus* Isolates: Results by Plate Type

Plate Type	Sensitivity	95% C.I.	Specificity	95% C.I.
Primary Plate¹	100.0% (129/129)	(97.1, 100.0)	98.5% (134/136)	(94.8, 99.6)
Tryptic Soy Agar with 5% sheep blood	99.1% (213/215)	(96.7, 99.8)	99.2% (237/239)	(97.0, 99.8)
Columbia Agar with 5% sheep blood	98.6% (212/215)	(96.0, 99.5)	99.2% (237/239)	(97.0, 99.8)
Mueller Hinton with 30 µg cefoxitin induction	99.1% (213/215)	(96.7, 99.8)	99.6% (238/239)	(97.7, 99.9)

1: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test was performed from primary plates at 2 out of 3 clinical sites. Primary plates were either Tryptic Soy Agar or Columbia Agar, with the exception of two samples of unknown plate type.

Analytical Performance













Analytical Reactivity and Specificity

162 strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and 112 strains of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) were tested with Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test with expected results. These bacterial strains were obtained from the Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA), American Type Culture Collection (ATCC) and a collection of strains from the Department of Infectious Disease Epidemiology of the Imperial College in London, England. Please note that isolates tested were not cultured using Columbia agar plates. All positive and negative daily controls generated the expected results.

Reproducibility Study

A study of Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test was conducted at 3 separate sites using panels of blind coded specimens containing negative and positive samples in duplicate for each panel. Participants each tested one panel on 5 different days. There was 100.0% (600/600) agreement with expected test results. There were no significant differences within run (replicates tested by one operator), between run (5 different days), between sites (3 sites), or between operators (6 operators). Please note that isolates tested were not cultured using Columbia agar plates. All positive and negative daily controls generated the expected results.

Symbols

		
Consult instructions for use	Authorized Representative in the European Community	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
		
Catalog number	CE Mark	Manufacturer
		
Temperature limitation	Hazard Pictogram. See precautions.	Kit contains sufficient materials for 25 tests
		
Do not reuse	Batch code	Use by

Ordering and Contact Information

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

US: 1 877 441 7440

OUS: +1 321 441 7200

Technical Support

Advice Line

Further information can be obtained from your distributor, or by contacting Alere™ Technical Support on:

US

1-877-866-9341

TS.SCR@alere.com

Africa, Russia, CIS

+972 8 9429 683

ARCISproductsupport@alere.com

Asia Pacific

+61 7 3363 7711

APproductsupport@alere.com

Canada

+1 800 818 8335

CANproductsupport@alere.com

Europe & Middle East

+44 161 483 9032

EMEpproductsupport@alere.com

Latin America

+57 2 6618797

LApproductsupport@alere.com

 893-000

References

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



PBP2a SA Culture Colony Test

Určené použití

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test je kvalitativní, imunochromatografický test *in vitro* pro rychlou detekci proteinu 2a (PBP2a) vázaného na penicilin v izolátech identifikovaných jako *Staphylococcus aureus*, jako pomůcka při identifikaci bakterií *Staphylococcus aureus* rezistentních na meticilin (MRSA).

Shrnutí a vysvětlení testu

Je známo, že díky včasné detekci stafylokokálních infekcí rezistentních na meticilin se snižují náklady na zdravotní péči, což má zásadní vliv na pokles morbidit a mortality pacientů, snížení empirického používání vankomycinu a dosažení úsporných rozhodnutí při optimální léčbě pacientů.¹

Konvenční metody testování antimikrobiální citlivosti mohou zabrat více než 24 hodin a provádění identifikace genu *mecA* je nákladné a časově náročné. Detekce proteinu 2a (PBP2a) vázaného na penicilin má oproti *mecA* výhodu v identifikaci kmenů, které nejenže mají gen *mecA*, ale také produkuje protein, který uděluje rezistenci na meticilin.

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test představuje jednoduchou a rychlou metodu pro detekci proteinu PBP2a vyskytujícího se v izolátech bakterií *Staphylococcus aureus* rezistentních na meticilin.


Zásady postupu

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test představuje rychlý imunochromatografický test membrány, ve kterém se využívají vysoce senzitivní rekombinantní monoklonální fragmenty protilátek (rFabs) k detekci proteinu PBP2a přímo z bakteriálních izolátů. Fragmenty rFab a kontrolní protein jsou imobilizovány na nitrocelulóзовé membráně jako dvě samostatné čáry a kombinovány s padem vzorku, růžovým/purpurovým padem konjugátu a absorpčním padem tvoří testovací proužek.

Izoláty jsou navzorkovány přímo z kultivační destičky a eluovány do zkumavky pro daný test obsahující činidlo 1. Poté se přidá činidlo 2 a testovací proužek se umístí do testové zkumavky. Výsledky se odečtou vizuálně po 5 minutách.

Činidla a materiály

Materiály obsažené v sadě pro Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

- **Testovací proužky:** Testovací proužek pokrytý plastovou vrstvou se směrovými šipkami označujícími testovací polohu.
- **Činidlo 1:** Čirý, modrý zásaditý roztok. 
- **Činidlo 2:** Čirý, mírně kyselý roztok obsahující pufr azid sodný a surfaktanty.
- **Testovací zkumavky**
- **Testovací stojánky**

Potřebný materiál, který není součástí soupravy:

Hodinky, časovač nebo stopky, bakteriologická očka, míchač a externí pozitivní a negativní kontrolní kmeny.


Externí pozitivní a negativní kontroly

Doporučené kontroly jsou uvedeny níže. Laboratoře mohou také použít běžně používané rezistentní a citlivé kmeny *S. aureus* za předpokladu, že kontrolní výsledky odpovídají očekávaným hodnotám.

Pozitivní kontrola: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negativní kontrola: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Upozornění

1. Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
2. Pokud jsou vzorky chlazené, nechte složky sady před použitím ohřát na pokojovou teplotu (15–30 °C).
3. Nechte testovací proužek uzavřený v sáčku a vytáhněte ho až těsně před použitím.
4. Chraňte se před kontaktem činidla a testovacího proužku s očima a kůží.
5. Sadu nepoužívejte po uplynutí data expirace.
6. Nevyměňujte ani nemíchejte složky ze sad různých šarží.
7. Stejně jako to platí u všech bakteriálních vzorků, kontroly a testovací proužky mohou obsahovat patogenní organismy; zacházejte s nimi s náležitou opatrností a materiál likvidujte bezpečně v nádobách na biologický odpad.
8. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test by se měl provádět pouze na izolátech *Staphylococcus aureus*.
9. Činidlo 1 obsahuje hydroxid sodný.
Pozor, způsobuje vážné poleptání kůže a poškození očí. 
10. Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list k tomuto výrobku.
11. Dodržujte národní, regionální a místní předpisy pro likvidaci odpadu.
12. Činidlo 2 obsahuje azid sodný.

Skladování a stabilita

Složky sady skladujte při pokojové teplotě nebo chlazené (2–30 °C).

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test a činidla jsou stabilní až do data expirace uvedeného na vnějším obalu.

Kontrola kvality

Každodenní kontrola kvality:

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test obsahuje pozitivní a negativní kontroly postupu. Při kontrole kvality společnost Alere doporučuje zaznamenat tyto kontroly pro každé spuštění testu.

Kontroly postupu:

- A. Pokud je na kontrolním řádku růžová/fialová barva, pozici lze považovat za interní pozitivní kontrolu postupu. Pokud došlo ke kapilárnímu pohybu, tento řádek se objeví vždy.
- B. Ve srovnání s barvou kontrolního řádku by měla barva pozadí testovacího proužku zbledat do 5 minut.

Externí pozitivní a negativní kontroly:

Osvědčené laboratorní postupy ukazují, že je dobré používat pozitivní a negativní kontroly pro zjištění toho, zda:

- fungují testovací činidla a
- zda se test provádí správně.

Pro každou novou šarží by se měl provést test pozitivní a negativní kontroly. Tím se bude sledovat celý průběh testu. Výsledky těchto kontrolních vzorků by se měly zaznamenat. Další pokyny najdete v části Postup přípravy vzorku.

Doporučené kontroly jsou uvedeny níže. Laboratoře mohou také použít běžně používané rezistentní a citlivé kmeny *S. aureus* za předpokladu, že kontrolní výsledky odpovídají očekávaným hodnotám.

Doporučené kontrolní kmeny:

Pozitivní kontrola: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Negativní kontrola: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Mohou být provedeny testy dalších kontrol, aby se dostalo

- místním, státním a/nebo federálním předpisům,
- akreditačním skupinám a/nebo
- standardům pro postup kontroly kvality vaší laboratoře.

Pokud se nezískají správné výsledky kontroly kvality, o výsledcích nepodávejte zprávu. Spojte se s technickou podporou (podívejte se do části Objednávky a kontaktní údaje).

Odebírání vzorků a manipulace s nimi

Vzorky jsou bakteriální izoláty bakterie *Staphylococcus aureus*. Doporučuje se používat čerstvé kultury (< 24 hodin). Výtěžnost testu Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test nebyla stanovena pro použití chlazených vzorků.

Média s kulturou

Kolonie *S. aureus* mohou být testovány kterýmkoli z následujících médií:

- Tryptone Soy Agar (tryptický sójový agar) s 5 % ovčí krve (krev TSA)
- Agar Columbia s 5 % ovčí krve
- Mueller-Hintonův agar

Kontrolní postupy

1. Přeneste kontrolní kmen na kultivační destičku. Inkubujte destičku přes noc při teplotě 33–35 °C po dobu 18–24 hod.
2. Postupujte podle níže uvedených kroků.

Postup testu

Pokud jsou činidla a testovací proužky zchlazené, nechte je před zahájením testu dosáhnout pokojové teploty (15–30 °C).

Test lze provádět na koloniích izolovaných v misce, a to na primární destičce, pokud dostatečně rostou, nebo lze test provádět na subkultuře izolátu.

1. Držte kapátko vertikálně a do testovací zkumavky přidejte dvě kapky činidla 1.
2. Vezměte jedno 1µl bakteriální očko (těžká očkovací látka) vzorku z kolonií izolovaných v misce na kultivační destičce, dejte vzorek do zkumavky a důkladně promíchejte.
3. Držte kapátko vertikálně a do zkumavky přidejte dvě kapky činidla 2.
4. Krátce zatočte. Modrý roztok se musí změnit na čirý (pokud se barva nezmění, přidejte ještě jednu kapku činidla 2 a promíchejte, dokud se vzorek nestane čirým).
5. Do testovací zkumavky vložte testovací proužek, přičemž šipky budou směřovat dolů.
6. Po pěti (5) minutách odstraňte testovací proužek ze zkumavky a odečtěte výsledek testu.

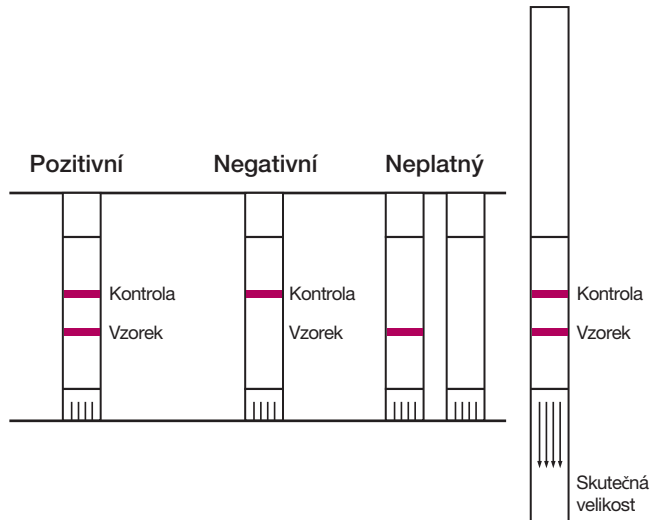
Interpretace výsledku

Informace k odečítání výsledku na testovacím proužku najdete v části Grafika interpretace výsledku.

U **negativního vzorku** se v horní polovině testovacího proužku objeví kontrolní RŮŽOVÁ/FIALOVÁ čára. Žádné další čáry se neobjeví.

U **pozitivního vzorku** se objeví kontrolní RŮŽOVÁ/FIALOVÁ čára a také druhá vzorková RŮŽOVÁ/FIALOVÁ čára pod první čárou, a to ve spodní polovině testovacího proužku. Když se objeví jakákoli vzorková čára, byť velmi slabá, je výsledek pozitivní.

Test je **neplatný**, pokud se neobjeví RŮŽOVÁ/FIALOVÁ kontrolní čára, bez ohledu na to, zda se objeví vzorková čára, nebo ne. Neplatný test zopakujte s novým testovacím proužkem. Pokud problém přetrvává, spojte se s technickou podporou Alere™.



Reportování výsledků

Výsledek	Navrhovaná zpráva
Pozitivní	Pozitivní pro PBP2a
Negativní	Negativní pro PBP2a
Neplatný	Neurčitý; zprávu nepodávejte. Pokud problém přetrvává, proveďte test vzorku znovu a spojte se s technickou podporou společnosti Alere™.

Klinická výtěžnost

Klinická výtěžnost testu Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test byla stanovena v klinické studii prováděné ve více centrech v roce 2013 ve třech (3) geograficky odlišných laboratořích.

Bylo testováno celkem 454 vzorků *S. aureus* v testu Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ve srovnání s výsledky diskové difuze 30 µg cefoxitinu a výsledky byly interpretovány podle norem CLSI. Výtěžnost testu Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ve srovnání s diskovou difuzí cefoxitinu je ukázána v tabulce 1, včetně 95% intervalu spolehlivosti a rozvrstvení podle typu destičky.

Všechny pozitivní a negativní denní kontroly vytvořily očekávané výsledky.

Tabulka 1: Výtěžnost testu Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test vs. disková difuze cefoxitinu (30 µg) u izolátů *S. aureus*: Výsledky podle typu destičky

Typ destičky	Senzitivita	95% C.I.	Specifická	95% C.I.
Primární destička ¹	100,0 % (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5 % (134/136)	(94,8, 99,6)
Tryptický sójový agar s 5 % ovčí krve	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Agar Columbia s 5 % ovčí krve	98,6 % (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Mueller Hinton se 30 µg cefoxitinové indukce	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6 % (238/239)	(97,7, 99,9)

1: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test byl proveden z primárních destiček na 2 klinických pracovištích ze 3. Primární destičky byly s tryptickým sójovým agarem nebo s agarem Columbia, s výjimkou dvou vzorků s neznámým typem destičky.

Analytická výtěžnost













Analytická reaktivita a specifická

162 kmenů bakterie *Staphylococcus aureus* rezistentní na meticilin (MRSA) a 112 kmenů bakterie *Staphylococcus aureus* citlivé na meticilin (MSSA) bylo otestováno pomocí testu Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test s očekávanými výsledky. Tyto bakteriální kmeny byly získány ze sítě Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA), American Type Culture Collection (ATCC) a sbírky kmenů z oddělení Department of Infectious Disease Epidemiology of the Imperial College v Londýně. Pamatujte, že testované izoláty nebyly kultivovány s použitím destiček s agarem Columbia. Všechny pozitivní a negativní denní kontroly vytvořily očekávané výsledky.

Studie reprodukovatelnosti

Studie testu Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test byla provedena na 3 oddělených pracovištích pomocí panelů se slepě kódovanými vzorky obsahujícími negativní a pozitivní vzorky v duplikátu pro každý panel. Účastníci vždy testovali jeden panel v 5 různých dnech. Bylo dosaženo 100,0% (600/600) shody s očekávanými výsledky testu. Nebyly zaznamenány žádné významné odchylky v rámci cyklu (replikáty testovány jedním pracovníkem), mezi cykly (5 různých dnů), mezi pracovišti (3 pracoviště) ani mezi pracovníky (6 pracovníků). Pamatujte, že testované izoláty nebyly kultivovány s použitím destiček s agarem Columbia. Všechny pozitivní a negativní denní kontroly vytvořily očekávané výsledky.

Symbole

 Podívejte se do návodu k použití	 Autorizovaný zástupce v Evropském společenství	 Diagnostický zdravotnický prostředek pro testy <i>in vitro</i>
 Katalogové číslo	 Značka CE	 Výrobce
 Teplotní omezení	 Výstražný symbol nebezpečnosti. Viz upozornění.	 Sada obsahuje dostatek materiálů pro 25 testů
 Nepoužívejte opakovaně	 Číslo šarže	 Použijte do

Objednávky a kontaktní údaje

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

USA: 1 877 441 7440

Ostatní země: +1 321 441 7200

Technická podpora

Poznámka

Další informace můžete získat od vašeho distributora nebo kontaktováním technické podpory společnosti Alere™ na:

USA

1 877 866 9341

TS.SCR@alere.com

Afrika, Rusko, CIS

+972 8 9429 683

ARCISproductsupport@alere.com

Asie, Tichomoří

+61 7 3363 7711

APproductsupport@alere.com

Kanada

+1 800 818 8335

CANproductsupport@alere.com

Evropa a Střední východ


+44 161 483 9032

EMEproductsupport@alere.com

Latinská Amerika

+57 2 6618797

LAPproductsupport@alere.com

 893-000

Odkazy

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Tilsigtet brug

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test er en kvalitativ, *in vitro* immunokromatografisk analyse til hurtig påvisning af penicillinbindende protein 2a (PBP2a) i isolater, der er identificeret som *Staphylococcus aureus*, som en hjælp ved identifikation af methicillinresistent *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Oversigt og forklaring af testen

Tidlig påvisning af methicillinresistent stafylokokinfektioner reducerer offentlige sundhedsudgifter, og den tidlige påvisning er altafgørende i bestræbelserne for at reducere patientmorbiditet og -dødelighed, reducere empirisk brug af vancomycin og give mulighed for at træffe omkostningseffektive beslutninger med henblik på optimal patienthåndtering.¹

Traditionelle metoder til testning af antimikrobiel følsomhed kan tage over 24 timer, og det er dyrt og tidskrævende at udføre *mecA*-genidentifikation. Påvisning af penicillinbindende protein 2a (PBP2a) har dog en fordel i forhold til *mecA*, idet der identificeres stammer, som ikke kun har *mecA*-genet, men som også producerer det protein, der medfører methicillinresistens.

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test er en enkel og hurtig metode til påvisning af PBP2a-proteinet, der findes i isolater af methicillinresistent *Staphylococcus aureus*.


Procedureprincipper

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test er en hurtig immunokromatografisk membrananalyse, der anvender yderst sensitive rekombinante monoklonale antistoffragmenter (rFabs) til påvisning af PBP2a-proteinet direkte fra bakterielle isolater. rFab og et kontrolprotein er immobiliseret på en nitrocellulosemembran som to tydelige streger og udgør sammen med en prøvepude, en lyserød/lilla konjugatpude og en absorptionspude den færdige teststrimmel.

Isolater tages direkte fra dyrkningspladen og elueres i et analyserør med reagens 1. Derefter tilføjes reagens 2, og teststrimlen anbringes i analyserøret. Resultaterne kan aflæses visuelt efter 5 minutter.

Reagenser og materialer

Sættet Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test indeholder følgende materialer

- **Teststrimler:** En teststrimmel med en plastyderside og retningspile, der angiver, hvordan strimlen skal vende under testen.
- **Reagens 1:** En klar, blå basisk opløsning. 
- **Reagens 2:** En klar, lettere sur opløsning, der indeholder natriumazidbuffer og overfladeaktive stoffer.
- **Analyserør**
- **Testtracks**

Nødvendige materialer, der ikke medfølger:

Ur, timer eller stopur, podenåle, vortex-mixer og eksterne positive og negative kontrolstammer.


Eksterne positive og negative kontroller

De anbefalede kontroller er angivet nedenfor. Alternativt kan laboratorierne anvende de resistente og sensitive *S. aureus*-stammer, der anvendes rutinemæssigt, såfremt kontrolresultaterne er som forventet.

Positiv kontrol: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negativ kontrol: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Forholdsregler

1. Kun til *in vitro*-diagnostisk brug.
2. Hvis sættet opbevares på køl, skal alle komponenterne have stuetemperatur (15-30° C), inden de anvendes.
3. Lad teststrimlen blive i den forseglede foliepose, indtil lige før den skal bruges.
4. Undgå, at reagenser og teststrimmel kommer i kontakt med hud og øjne.
5. Sættet må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
6. Komponenter med forskellige lotnumre må ikke ombyttes eller blandes.
7. Som med alle bakterielle prøver kan kontroller og teststrimler indeholde patogene organismer. Tag derfor de nødvendige forholdsregler ved håndtering af prøverne, og bortskaf materialer sikkert i beholdere til biologisk farligt affald.
8. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test må kun udføres på isolater af *Staphylococcus aureus*.
9. Reagens 1 indeholder natriumhydroxid. FARE! Medfører alvorlige forbrændinger på huden samt beskadigelse af øjnene. 
10. Sikkerhedsdatablade til dette produkt udleveres efter anmodning.
11. Følg de nationale, regionale og lokale regler for bortskaffelse af affald.
12. Reagens 2 indeholder natriumazid.

Opbevaring og stabilitet

Opbevar sættets komponenter ved stuetemperatur eller på køl (2-30° C).

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test og reagenserne er holdbare indtil udløbsdatoen, der er angivet på den ydre emballage.

Kvalitetskontrol

Daglig kvalitetskontrol:

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test har indbyggede positive og negative procedurekontroller. Som kvalitetskontrol anbefaler Alere, at du registrerer disse kontroller for hver testkørsel.

Procedurekontroller:

- A. Hvis der fremkommer en lyserød/lilla streg i kontrolområdet, kan det tolkes som en positiv intern procedurekontrol. Hvis der forekommer et kapillærflow, vil denne streg altid fremkomme.
- B. Sammenlignet med kontrolstregens farve skal teststrimlens baggrundsfarve være hvid inden for 5 minutter.

Eksterne positive og negative kontroller:

Ifølge god laboratoriepraksis skal der anvendes positive og negative kontroller for at sikre, at

- testreagenserne virker
- testen udføres korrekt.

Eksterne positive og negative kontroller skal testes for hvert nye lot. Disse monitorerer hele analysen. Resultaterne af disse kontrolprøver skal registreres. Se yderligere instruktioner i afsnittet om proceduren for prøveforberedelse.

De anbefalede kontroller er angivet nedenfor. Alternativt kan laboratorierne anvende de resistente og sensitive *S. aureus*-stammer, der anvendes rutinemæssigt, såfremt kontrolresultaterne er som forventet.

Anbefalede kontrolstammer:

Positiv kontrol: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Negativ kontrol: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Andre kontroller kan testes for at overholde

- lokale, nationale og/eller internationale bestemmelser
- akkrediterende organisationer og/eller
- laboratoriets standardkvalitetskontrolprocedurer.

Hvis der ikke opnås korrekte kontrolresultater, må resultaterne ikke rapporteres. Kontakt teknisk support (se yderligere i afsnittet om bestillings- og kontaktoplysninger).

Prøvetagning og -håndtering

Prøver er bakterielle isolater af *Staphylococcus aureus*. Det anbefales at anvende friske dyrkninger (< 24 timer). Ydeevnen af Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test er ikke blevet undersøgt med brug af afkølede prøver.

Dyrkningsmedium

S. aureus-kolonier kan testes fra ethvert af følgende dyrkningsmedier:

- TSA-agar (tryptisk soja-agar) med 5 % fåreblod (TSA-blod)
- Columbia-agar med 5 % fåreblod
- Mueller Hinton-agar

Kontrolprocedurer

1. Subkultiver kontrolstammen på en dyrkningsplade. Inkuber pladen natten over ved 33-35° C i 18-24 timer.
2. Følg nedenstående analyseprocedure.

Analyseprocedure

Hvis de har været på køl, skal reagenser og teststrimler have stuetemperatur (15-30° C) inden testning.

Testen kan udføres fra velisolerede kolonier på primærpladen, hvis der er tilstrækkelig vækst, eller fra en subkultur på isolatet.

1. Hold dråbeflasken vertikalt, og tilsæt to dråber reagens 1 til et analyserør.
2. Brug en 1 µl podenål til at tage en prøve (et koncentreret inokulum) fra velisolerede kolonier på dyrkningspladen, anbring den i røret, og bland grundigt.
3. Hold dråbeflasken vertikalt, og tilsæt to dråber reagens 2 til røret.
4. Bland kortvarigt på vortex-mixer. Den blå opløsning skal skifte farve til en klar væske (hvis farven ikke skifter, tilføjes endnu en dråbe reagens 2, og der blandes, til prøven bliver klar).
5. Sæt teststrimlen i analyserøret, og sørg for, at retningspilene vender nedad.
6. Efter fem (5) minutter tages teststrimlen ud af røret, og analyseresultatet aflæses.

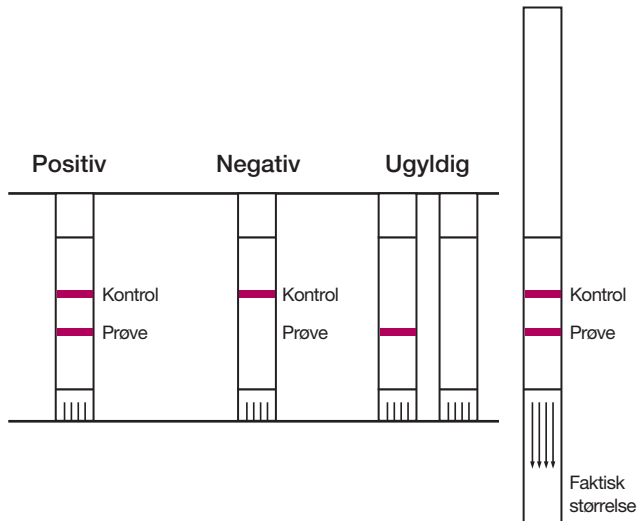
Fortolkning af resultater

Hvis du har brug for hjælp til at aflæse teststrimlen, henvises til grafikken over fortolkning af resultater.

Med en **negativ prøve** fremkommer en LYSERØD/LILLA kontrolstreg i øverste halvdel af teststrimlen. Der fremkommer ikke andre streger.

Med en **positiv prøve** fremkommer den LYSERØDE/LILLA kontrolstreg, OG en LYSERØD/LILLA prøvestreg fremkommer under den på teststrimlens nederste halvdel. Enhver prøvestreg, selv meget svag, er positiv.

En test er **ugyldig**, hvis den LYSERØDE/LILLA kontrolstreg ikke fremkommer, uanset om der fremkommer en prøvestreg eller ej. En ugyldig test skal gentages med en ny teststrimmel. Kontakt Alere™ teknisk support, hvis problemet fortsætter.



Rapportering af resultater

Resultat	Anbefalet rapportering
Positiv	Positiv for PBP2a
Negativ	Negativ for PBP2a
Ugyldig	Inkonklusiv; må ikke rapporteres. Test prøven igen, og kontakt Alere™ teknisk servicesupport, hvis problemet fortsætter.

Klinisk ydeevne

Den kliniske ydeevne af Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test blev undersøgt i et klinisk multicenterforsøg, der blev udført i 2013 på tre (3) laboratorier med forskellig geografisk beliggenhed.

I alt 454 *S. aureus*-prøver blev undersøgt i Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, sammenlignet med resultater af 30 µg cefoxitin disk diffusion og fortolket i henhold til CLSI-standarder. Resultatet med Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test sammenlignet med cefoxitin disk diffusion, inklusive 95 % konfidensintervaller og stratificeret efter pladetype, er opstillet i tabel 1.

Alle positive og negative daglige kontroller genererede de forventede resultater.

Tabel 1: Resultat af Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test sammenlignet med cefoxitin (30 µg) disk diffusion i *S. aureus*-isolater: Resultater efter pladetype

Pladetype	Sensitivitet	95 % K.I.	Specificitet	95 % K.I.
Primærplade¹	100,0 % (129/129)	(97,1; 100,0)	98,5 % (134/136)	(94,8; 99,6)
TSA-agar med 5 % fåreblod	99,1 % (213/215)	(96,7; 99,8)	99,2 % (237/239)	(97,0; 99,8)
Columbia-agar med 5 % fåreblod	98,6 % (212/215)	(96,0; 99,5)	99,2 % (237/239)	(97,0; 99,8)
Mueller Hinton med 30 µg cefoxitininduktion	99,1 % (213/215)	(96,7; 99,8)	99,6 % (238/239)	(97,7; 99,9)

¹: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test blev udført fra primærplader på 2 ud af 3 laboratorier. Primærpladerne var enten tryptisk soja-agar eller Columbia-agar med undtagelse af to plader af en ukendt pladetype.

Analytisk ydeevne













Analytisk reaktion og specificitet

162 stammer af methicillinresistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) og 112 stammer af methicillinsensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) blev testet med Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test med de forventede resultater. Disse bakteriestammer blev skaffet fra NARSA (Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*), ATCC (American Type Culture Collection) og en samling af stammer fra Department of Infectious Disease Epidemiology of the Imperial College i London, England. Bemærk, at de testede isolater ikke blev dyrket på Columbia-agarplader. Alle positive og negative daglige kontroller genererede de forventede resultater.

Undersøgelse af reproducerbarhed

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test blev testet på 3 separate testcentre med paneler bestående af blindkodede prøver, der indeholdt negative og positive prøver og blev testet med dobbeltbestemmelse for hvert panel. Deltagerne testede ét panel på 5 forskellige dage. Der var 100,0 % (600/600) overensstemmelse med de forventede testresultater. Der var ingen signifikante variationer inden for analysen (replikater blev testet af én bruger), mellem analyser (5 forskellige dage), mellem centre (3 centre) eller mellem brugere (6 brugere). Bemærk, at de testede isolater ikke blev dyrket på Columbia-agarplader. Alle positive og negative daglige kontroller genererede de forventede resultater.

Symboler

		
Se brugsanvisningen	Autoriseret repræsentant i EU	Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik
		
Katalognummer	CE-mærke	Producent
		
Temperaturbegrænsning	Farepiktogram. Se forholdsreglerne.	Sættet indeholder materialer til 25 test
		
Må ikke genbruges	Batchkode	Anvendes inden

Bestillings- og kontaktoplysninger

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

USA: 1 877 441 7440

Uden for USA: +1 321 441 7200

Teknisk support

Hotline

Du kan få yderligere oplysninger hos din forhandler eller ved at kontakte Alere™ teknisk support på:

USA

1-877-866-9341 TS.SCR@alere.com

Afrika, Rusland og SNG-landene

+972 8 9429 683 ARCISproductsupport@alere.com

Asien og Stillehavsområdet

+61 7 3363 7711 APproductsupport@alere.com

Canada


+1 800 818 8335 CANproductsupport@alere.com

Europa og Mellemøsten

+44 161 483 9032 EMEproductsupport@alere.com

Latinamerika

+57 2 6618797 LAproductsupport@alere.com

 893-000

Referencer

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. Diagn Microbiol Infect Dis. juni 2005; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Anwendungsbereich

Der Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ist ein qualitativer *in-Vitro* immunchromatographischer Assay für den schnellen Nachweis des Penicillin-bindenden Proteins 2a (PBP2a) in *Staphylococcus aureus*-Isolaten zur Identifizierung von Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Die Früherkennung von Methicillin-resistenten *Staphylococcus*-Infektionen soll Gesundheitskosten reduzieren, ist entscheidend für die Bemühungen zur Senkung der Patientenmorbidity und -mortality, reduziert die empirische Anwendung von Vancomycin und ermöglicht kostenwirksame Entscheidungen für ein optimales Patientenmanagement.¹

Konventionelle Testmethoden auf Antibiotikaempfindlichkeit können länger als 24 Stunden dauern und der *mecA*-Gen-Nachweis ist in der Durchführung zeit- und kostenaufwendig. Der Nachweis von Penicillin-bindendem Protein 2a (PBP2a) hat gegenüber der *mecA*-Methode jedoch den Vorteil, nicht nur Stämme, die das *mecA*-Gen in sich tragen, zu identifizieren, sondern auch das Protein zu erzeugen, das für die Methicillin-Resistenz verantwortlich ist.

Der Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test bietet eine einfache und schnelle Methode zum Nachweis des PBP2-Proteins in Isolaten von Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus*.


Verfahrensgrundlagen

Der Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ist ein immunchromatographischer Membran-Schnelltest, bei dem hochsensitive rekombinante monoklonale Antikörperfragmente (rFabs) zum Nachweis von PBP2a-Protein direkt in Bakterien-Einzelkulturen eingesetzt werden. Die rFab und ein Kontroll-Protein werden auf einer Nitrozellulosemembran als zwei ausgeprägte Linien immobilisiert und mit einem Proben-Pad, einem rosa/violettfarbenen Konjugat-Pad und einem Absorptions-Pad kombiniert, um einen Teststreifen zu bilden.

Isolate werden direkt von der Kulturplatte entnommen und in ein Teströhrchen mit Reagenz 1 eluiert. Anschließend wird Reagenz 2 hinzugefügt und der Teststreifen wird in das Teströhrchen eingeführt. Innerhalb von 5 Minuten können die Ergebnisse visuell abgelesen werden.

Reagenzien und Materialien

Im Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kit enthaltene Materialien

- **Teststreifen:** Ein mit Plastikfolie abgedeckter Teststreifen mit Richtungspfeilen für die Testposition.
- **Reagenz 1:** Eine klare, blaue Alkalilösung. 
- **Reagenz 2:** Eine klare, schwach saure Lösung, die Natriumazid-Puffer und Tenside enthält.
- **Teströhrchen**
- **Testgestell**

Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien:

Eine Uhr, ein Timer oder eine Stoppuhr, Impfösen, Vortexmischer und externe Positiv- und Negativkontrollstämme.


Externe Positiv- und Negativkontrollen

Nachfolgend sind die empfohlenen Kontrollen aufgeführt. Alternativ können Labore auch resistente und sensitive routinemäßig verwendete *S. aureus*-Stämme einsetzen, die sicherstellen, dass die Kontrollergebnisse wie erwartet sind.

Positivkontrolle: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negativkontrolle: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für die professionelle *in-Vitro*-Diagnostik.
2. Wenn die Komponenten des Kits gekühlt sind, bitte alle Komponenten vor der Verwendung auf Raumtemperatur (15-30 °C) bringen.
3. Die Teststreifen bis unmittelbar vor der Verwendung im Folienbeutel belassen.
4. Haut- und Augenkontakt mit den Reagenzien und dem Teststreifen vermeiden.
5. Das Kit nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
6. Komponenten unterschiedlicher Kit-Chargen nicht gegenseitig austauschen oder zusammen verwenden.
7. Da alle Bakterienproben, Kontrollen und Teststreifen pathogene Organismen enthalten können, sind diese mit entsprechender Vorsicht zu handhaben und das Material ist sicher in Behältern für Abfälle mit biologischen Gefahrenstoffen zu entsorgen.
8. Der Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test sollte nur mit Isolaten von *Staphylococcus aureus* durchgeführt werden.
9. Reagenz 1 enthält Natriumhydroxid. GEFAHR: verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. 
10. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage erhältlich.
11. Die nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen bezüglich der Abfallentsorgung sind zu befolgen.
12. Reagenz 2 enthält Natriumazid.

Lagerung und Stabilität

Die Komponenten des Kits bei Raumtemperatur oder gekühlt (2-30 °C) lagern.

Das Alere™ PBP2a SA Culture Colony Testkit und die Reagenzien sind bis zu dem auf der Außenverpackung angegebenen Verfallsdatum stabil.

Qualitätskontrolle

Tägliche Qualitätskontrolle:

Der Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test verfügt über positive und negative Verfahrenskontrollen. Alere empfiehlt, diese Qualitätskontrollen bei jedem Testlauf zu protokollieren.

Verfahrenskontrollen:

- A. Erscheint ein rosa/violetter Streifen an der Position des „Kontrollstreifens“, kann dies als interne positive Verfahrenskontrolle angesehen werden. Bei Auftreten von Kapillarströmung wird dieser Streifen immer angezeigt.
- B. Im Vergleich zur Farbe des Kontrollstreifens sollte die Hintergrundfarbe des Teststreifens innerhalb von 5 Minuten weiß sein.

Externe Positiv- und Negativkontrollen:

Entsprechend guter Laborpraxis ist die Verwendung von Positiv- und Negativkontrollen zu empfehlen. Damit wird geprüft, ob

- die Testreagenzien in Ordnung sind und
- der Test korrekt durchgeführt wurde.

Für jede neue Charge sind externe Positiv- und Negativkontrollen zu testen. Diese überwachen den gesamten Assay. Das Ergebnis dieser Kontrollproben sollte protokolliert werden. Weitere Anweisungen finden Sie im Abschnitt Verfahren zur Probenvorbereitung.

Nachfolgend sind die empfohlenen Kontrollen aufgeführt. Alternativ können Labore auch resistente und sensitive routinemäßig verwendete *S. aureus*-Stämme einsetzen, die sicherstellen, dass die Kontrollergebnisse wie erwartet sind.

Empfohlene Kontrollstämme:

Positivkontrolle: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Negativkontrolle: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Andere Kontrollen können getestet werden, wenn dies folgende Aspekte bzw. Stellen erforderlich machen:

- Lokale, bundesstaatliche und staatliche Vorschriften und Gesetze,
- Zulassungsgruppen und/oder
- standardmäßige Qualitätskontrollverfahren in Ihrem Labor.

Wenn keine korrekten Kontrollergebnisse erzielt werden, Ergebnisse nicht berichten. Den technischen Kundendienst kontaktieren (siehe unter Abschnitt Bestell- und Kontaktinformationen).

Probenentnahme und -handhabung

Proben sind Bakterien-Einzelkulturen von *Staphylococcus aureus*. Es wird die Verwendung von frischen (< 24 Stunden) Kulturen empfohlen. Die Durchführung des Alere™ PBP2a SA Culture Colony Tests ist nicht unter Verwendung von gekühlten Proben vorgesehen.

Kulturmedien

S. aureus-Kolonien können von jedem der nachfolgenden Kulturmedien getestet werden:

- Trypton-Soja-Agar (Tryptischer Soja-Agar) mit 5 % Schafsblut (TSA-Blut)
- Columbia-Agar mit 5 % Schafsblut
- Müller-Hinton-Agar

Kontrollverfahren

1. Den Kontrollstreifen auf einer Kulturplatte subkultivieren. Die Platte über Nacht bei 33-35 °C für 18-24 Stunden inkubieren.
2. Das nachfolgende Testverfahren befolgen.

Testverfahren

Alle gekühlten Reagenzien und Teststreifen vor Beginn des Tests auf Raumtemperatur (15-30 °C) bringen.

Der Test kann bei ausreichendem Wachstum von gut isolierten Kolonien auf der Primärplatte oder von einer Subkultur des Isolats erfolgen.

1. Das Tropffläschchen vertikal halten und zwei Tropfen Reagenz 1 in das Teströhrchen geben.
2. Aus einer Probe gut vereinzelter Kolonien 1 µl mit einer Impföse (großes Inokulum) von der Kulturplatte entnehmen. Impföse in das Röhrchen einführen und gründlich mischen.
3. Das Tropffläschchen vertikal halten und zwei Tropfen Reagenz 2 in das Teströhrchen geben.
4. Kurz vortexen. Die blaue Lösung muss eine klare Farbe annehmen (falls die Farbe sich nicht verändert, einen weiteren Tropfen Reagenz 2 hinzugeben und vermischen, bis die Probe klar wird).
5. Den Teststreifen in das Teströhrchen mit den Pfeilen nach unten einführen.
6. Nach fünf (5) Minuten den Teststreifen aus dem Röhrchen herausnehmen und das Assayergebnis ablesen.

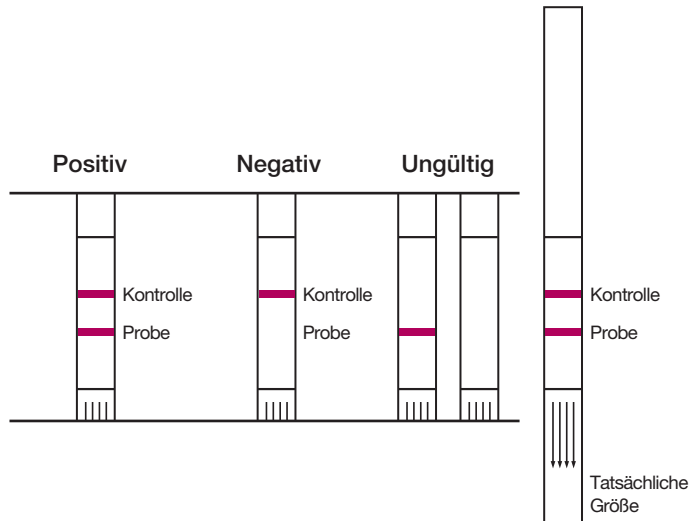
Auswertung der Ergebnisse

Weitere Hilfe bezüglich des Ablesens des Teststreifens finden Sie in der Grafik zur Ergebnisauswertung.

Bei einer **negativen Probe** erscheint ein ROSA/VIOLETTES Kontrollstreifen in der oberen Hälfte des Teststreifens. Es erscheint kein weiterer Streifen.

Bei einer **positiven Probe** erscheint der ROSA/VIOLETTE Kontrollstreifen UND ein zweiter ROSA/VIOLETTES Probenstreifen erscheint in der unteren Hälfte des Teststreifens. Jeder noch so schwache Probenstreifen ist positiv.

Ein Test ist **ungültig**, wenn der ROSA/VIOLETTE Kontrollstreifen nicht erscheint, unabhängig davon, ob Probenlinien vorhanden sind oder nicht. Ungültige Tests mit einem neuen Teststreifen wiederholen. Sollte das Problem weiter bestehen, wenden Sie sich an den technischen Kundendienst von Alere™.



Ergebnisbericht

Ergebnis

Positiv

Negativ

Ungültig

Empfohlener Bericht

Positiv für PBP2a

Negativ für PBP2a

Unbestimmt, nicht berichten. Die Probe erneut testen. Sollte das Problem weiter bestehen, kontaktieren Sie den technischen Kundendienst von Alere™.

Klinische Leistung

Die klinische Leistung des Alere™ PBP2a SA Culture Colony Tests wurde in einer multizentrischen Studie ermittelt, die im Jahr 2013 in drei (3) geographisch unterschiedlichen Labors durchgeführt wurde.

Es wurden insgesamt 454 *S. aureus*-Proben im Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test analysiert, mit den Ergebnissen des Diffusionstests (30 µg Cefoxitin) verglichen und gemäß CLSI-Normen ausgewertet. Der Vergleich der Leistung des Alere™ PBP2a SA Culture Colony Tests gegenüber dem Cefoxitin-Diffusionstest wird einschließlich Konfidenzintervallen von 95 % und nach Plattentyp geschichtet in Tabelle 1 dargestellt.

Alle positiven und negativen täglichen Kontrollen führten zu den erwarteten Ergebnissen.

Tabelle 1: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Testleistung vs. Diffusionstest (Cefoxitin 30 µg) in *S. aureus*-Isolaten: Ergebnisse nach Plattentyp

Plattentyp	Sensitivität	95 % KI	Spezifität	95 % KI
Primärplatte¹	100,0 % (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5 % (134/136)	(94,8, 99,6)
Tryptischer Soja-Agar mit 5 % Schafsblut	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Columbia-Agar mit 5 % Schafsblut	98,6 % (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Müller-Hinton mit 30 µg Cefoxitin-Induktion	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6 % (238/239)	(97,7, 99,9)

1: Der Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test wurde an 2 von 3 klinischen Zentren von der Primärplatte durchgeführt. Primärplatten waren entweder Tryptischer-Soja-Agar oder Columbia-Agar, mit Ausnahme von zwei Proben eines unbekanntem Plattentyps.

Analytische Leistung













Analytische Reaktivität und Spezifität

162 Stämme von Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) und 112 Stämme von Methicillin-sensitivem *Staphylococcus aureus* (MSSA) wurden mit dem Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test mit den erwarteten Ergebnissen getestet. Diese Bakterienstämme wurden in *Staphylococcus aureus* vom Netzwerk für die Resistenz gegen antimikrobielle Mittel (NARSA, Network on Antimicrobial Resistance) und von der American Type Culture Collection (ATCC) erhalten, und eine Sammlung von Stämmen wurde vom Institut für Infektionskrankheiten und Epidemiologie des Imperial College in London, England, erhalten. Bitte beachten Sie, dass die untersuchten Isolate nicht unter Verwendung von Columbia-Agar-Platten gezüchtet wurden. Alle positiven und negativen täglichen Kontrollen führten zu den erwarteten Ergebnissen.

Reproduzierbarkeitsstudie

An drei separaten Prüfzentren wurde eine Studie des Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test mit Panels blind kodierter Proben mit negativen und positiven Proben in doppelter Ausfertigung für jedes Panel durchgeführt. Die Teilnehmer testeten jeder ein Panel an 5 verschiedenen Tagen. Es wurde eine Übereinstimmung von 100,0 % (600/600) mit den erwarteten Testergebnissen erzielt. Es bestanden keine nennenswerten Unterschiede innerhalb eines Testlaufs (Einzelmessungen von einem Bediener getestet), zwischen den Testläufen (5 verschiedene Tage), zwischen den Standorten (3 Standorte) oder zwischen den Bedienern (6 Bediener). Bitte beachten Sie, dass die untersuchten Isolate nicht unter Verwendung von Columbia-Agar-Platten gezüchtet wurden. Alle positiven und negativen täglichen Kontrollen führten zu den erwarteten Ergebnissen.

Symbol

		
Gebrauchsanleitung beachten	Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft	Medizinisches Gerät zur <i>In-Vitro</i> -Diagnostik
		
Bestellnummer	CE-Kennzeichnung	Hersteller
		
Temperaturbegrenzung	Gefahrenpiktogramm. Siehe Vorsichtsmaßnahmen.	Das Kit enthält ausreichend Material für 25 Tests.
		
Einwegprodukt	Chargencode	Verwendbar bis

Bestell- und Kontaktinformation

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

USA: 1 877 441 7440

Von außerhalb der USA: +1 321 441 7200

Technischer Support

Hotline

Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Vertriebspartner, oder kontaktieren Sie den technischen Kundendienst von Alere™ über:

USA

1-877-866-9341 TS.SCR@alere.com

Afrika, Russland, GUS-Staaten

+972 8 9429 683 ARCISproductsupport@alere.com

Asien-Pazifik-Raum

+61 7 3363 7711 APproductsupport@alere.com

Kanada


+1 800 818 8335 CANproductsupport@alere.com

Europa und Naher Osten

+44 161 483 9032 EMEproductsupport@alere.com

Lateinamerika

+57 2 6618797 LAproductsupport@alere.com

 893-000

Referenzen

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



PBP2a SA Culture Colony Test

Χρήση για την οποία προορίζεται

Η Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test (σε καλλιέργειες αποικιών SA) είναι μια ποιοτική, *in vitro* δοκιμασία ανοσοχρωματογραφίας για ταχεία ανίχνευση της πρωτεΐνης PBP2a (πρωτεΐνη δέσμευσης πενικιλίνης 2a) σε απομονωμένα στελέχη *Staphylococcus aureus* (χρυσίζοντα σταφυλόκοκκου) που βοηθάει στην ταυτοποίηση του ανθεκτικού στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Σύνοψη και επεξήγηση της δοκιμασίας

Είναι γνωστό ότι η πρώιμη ανίχνευση των ανθεκτικών στη μεθικιλίνη σταφυλοκοκκικών λοιμώξεων μειώνει το κόστος περίθαλψης, σημαντικό στην προσπάθεια μείωσης της νοσηρότητας και θνητότητας των ασθενών, ελαττώνει την χρήση βανκομυκίνης και επιτρέπει τη λήψη οικονομικά αποδοτικών αποφάσεων για τη βέλτιστη διαχείριση των ασθενών.¹

Οι συμβατικές μέθοδοι εξέτασης της μικροβιακής ευαισθησίας ενδέχεται να διαρκούν πάνω από 24 ώρες, ενώ η ταυτοποίηση του γονιδίου *mecA* είναι ακριβή και χρονοβόρος διαδικασία. Αντίθετα, η ανίχνευση της πρωτεΐνης δέσμευσης πενικιλίνης 2a (PBP2a) πλεονεκτεί έναντι της δοκιμασίας *mecA* στην ταυτοποίηση στελεχών, όχι μόνο που φέρουν το γονίδιο *mecA* αλλά παράγουν και την πρωτεΐνη που προσδίδει την αντίσταση στη μεθικιλίνη.

Η Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test παρέχει μια απλή και ταχεία μέθοδο ανίχνευσης της πρωτεΐνης PBP2a που απαντάται στον ανθεκτικό στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA).


Αρχή της διαδικασίας

Η Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test είναι μια ταχεία δοκιμασία ανοσοχρωματογραφικής μεμβράνης που χρησιμοποιεί ανασυνδυασμένα τμήματα μονοκλωνικού αντισώματος υψηλής ευαισθησίας (rFabs) για την ανίχνευση της πρωτεΐνης PBP2a απευθείας από μεμονωμένα βακτηριακά στελέχη. Για τη δημιουργία της δοκιμαστικής ταινίας, το rFab και μία πρωτεΐνη ελέγχου ακινητοποιούνται σε νιτροκυτταρική μεμβράνη ως δύο διακριτές γραμμές και συνδυάζονται με ένα επίθεμα δείγματος, ένα συζευγμένο ροζ/μοβ επίθεμα και ένα απορροφητικό επίθεμα.

Τα απομονωμένα στελέχη λαμβάνονται απευθείας από το τρυβλίο καλλιέργειας και εκλύονται σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει Αντιδραστήριο 1. Στη συνέχεια προστίθεται το Αντιδραστήριο 2 και η δοκιμαστική ταινία τοποθετείται μέσα στο δοκιμαστικό σωλήνα. Τα αποτελέσματα είναι ορατά αναγνώσιμα σε 5 λεπτά.

Αντιδραστήρια και υλικά

Υλικά που παρέχονται στο κιτ της Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test

- **Δοκιμαστικές ταινίες:** Δοκιμαστική ταινία με επικάλυψη από πλαστικό υλικό και κατευθυντήρια βέλη που υποδεικνύουν τη θέση εξέτασης.
- **Αντιδραστήριο 1:** Διαυγές, κυανό, αλκαλικό διάλυμα. 
- **Αντιδραστήριο 2:** Διαυγές, ελαφρώς όξινο διάλυμα που περιέχει τασιενεργά και ρυθμιστικό με υδραζωτικό νάτριο.
- **Δοκιμαστικοί σωλήνες**
- **Στατώ δοκιμασίας**

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται:

Ρολόι, χρονοδιακόπτης ή χρονόμετρο, βακτηριολογικοί κρίκοι, μικροφυγόκεντρος vortex και στελέχη εξωτερικών, θετικών και αρνητικών μαρτύρων.


Εξωτερικοί θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες

Οι συνιστώμενοι μάρτυρες αναγράφονται παρακάτω. Εναλλακτικά, τα εργαστήρια μπορούν να χρησιμοποιούν ευαίσθητα ή ανθεκτικά στελέχη *S. aureus* ως συνήθως, αρκεί τα αποτελέσματα μαρτύρων να είναι τα αναμενόμενα.

Θετικός μάρτυρας: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Αρνητικός μάρτυρας: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Προφυλάξεις

- Μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Εάν φυλάσσονται στο ψυγείο, αφήστε τα συστατικά του κιτ να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου (15-30 °C) πριν τη χρήση.
- Φυλάσσετε τις δοκιμαστικές ταινίες μέσα στην αλουμινένια θήκη τους μέχρι τη στιγμή που θα τις χρησιμοποιήσετε.
- Αποφύγετε να έρθουν τα αντιδραστήρια και η δοκιμαστική ταινία σε επαφή με το δέρμα και τα μάτια.
- Μη χρησιμοποιείτε το κιτ μετά την ημερομηνία λήξης.
- Μην αναμειγνύετε ή ανταλλάσσετε εξαρτήματα από διαφορετικές παρτίδες κιτ.
- Όπως με κάθε βακτηριακό δείγμα, οι μάρτυρες και οι δοκιμαστικές ταινίες ενδέχεται να περιέχουν παθογόνους οργανισμούς. Να λαμβάνετε τις κατάλληλες προφυλάξεις κατά το χειρισμό και να απορρίπτετε τα υλικά με ασφαλή τρόπο σε δοχεία βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων.
- Η Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test θα πρέπει να πραγματοποιείται μόνο σε απομονωμένα στελέχη *Staphylococcus aureus*.
- Το αντιδραστήριο Reagent 1 περιέχει υδροξείδιο του νατρίου.  ΚΙΝΔΥΝΟΣ: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.
- Τα Δελτία δεδομένων ασφαλείας για αυτό το προϊόν είναι διαθέσιμα κατόπιν αιτήματος.
- Ακολουθήστε αναλόγως τις εθνικές, περιφερειακές και τοπικές διατάξεις για τους κανονισμούς απόρριψης αποβλήτων.
- Το Αντιδραστήριο 2 περιέχει υδραζωτικό νάτριο.

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε τα συστατικά του κιτ σε θερμοκρασία δωματίου ή στο ψυγείο (2-30 °C, 36-86 °F).

Το κιτ της Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test και τα αντιδραστήρια είναι σταθερά έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην εξωτερική τους συσκευασία.

Ποιοτικός έλεγχος

Καθημερινός ποιοτικός έλεγχος:

Η Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test έχει ενσωματωμένους θετικούς και αρνητικούς ελέγχους. Όσον αφορά στον ποιοτικό έλεγχο, η Alere συνιστά να καταγράφετε αυτούς τους ελέγχους κάθε φορά που εκτελείτε μια δοκιμασία.

Μάρτυρες για έλεγχο της διαδικασίας:

- Η εμφάνιση ροζ-μοβ γραμμής στη θέση "Μάρτυρας" αποτελεί εσωτερικό διαδικαστικό έλεγχο. Εάν η δοκιμασία κυλάει ομαλά, τότε η γραμμή αυτή θα εμφανίζεται πάντα.
- Σε αντίθεση με το χρώμα στη θέση του Μάρτυρα, το χρώμα στο πίσω μέρος της δοκιμαστικής ταινίας θα πρέπει να είναι λευκό μέσα σε 5 λεπτά.

Εξωτερικοί θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες

Η καλή εργαστηριακή πρακτική υποδεικνύει τη χρήση θετικών και αρνητικών μαρτύρων για να διασφαλιστεί ότι:

- τα αντιδραστήρια της δοκιμασίας λειτουργούν και
- η δοκιμασία εκτελείται σωστά.

Οι εξωτερικοί και αρνητικοί μάρτυρες θα πρέπει να ελέγχονται σε κάθε νέα παρτίδα. Οι μάρτυρες θα παρακολουθούν ολόκληρη τη διαδικασία της εξέτασης και τα αποτελέσματα θα πρέπει να καταγράφονται. Για περαιτέρω πληροφορίες, παρακαλούμε να ανατρέξετε στην ενότητα Διαδικασία προετοιμασίας δείγματος.

Οι συνιστώμενοι μάρτυρες αναγράφονται παρακάτω. Εναλλακτικά, τα εργαστήρια μπορούν να χρησιμοποιούν ευαίσθητα ή ανθεκτικά στελέχη *S. aureus* ως συνήθως, αρκεί τα αποτελέσματα μαρτύρων να είναι τα αναμενόμενα.

Συνιστώμενα στελέχη μαρτύρων:

Θετικός μάρτυρας: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Αρνητικός μάρτυρας: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Άλλοι μάρτυρες μπορούν ενδεχομένως να εξετάζονται, σύμφωνα με

- τους τοπικούς, εθνικούς ή/και ευρωπαϊκούς κανονισμούς,
- τους φορείς πιστοποίησης ή/και
- τις καθιερωμένες διαδικασίες Ποιοτικού Ελέγχου του εργαστηρίου σας.

Εάν δεν λάβετε τα ορθά αποτελέσματα από τον έλεγχο, μην τα καταγράψετε. Επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη (παρακαλούμε να ανατρέξετε στην ενότητα Πληροφορίες παραγγελιών και στοιχεία επικοινωνίας).

Συλλογή και χειρισμός δειγμάτων

Τα δείγματα είναι απομονωμένα στελέχη του βακτηρίου *Staphylococcus aureus*. Συνιστάται η χρήση φρέσκων καλλιεργιών (< 24 ωρών). Η εκτέλεση της Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test δεν έχει τεκμηριωθεί με χρήση δειγμάτων από το ψυγείο.

Μέσα καλλιέργειας

Οι αποικίες *S. aureus* μπορούν να εξετάζονται από οποιοδήποτε από τα παρακάτω μέσα καλλιέργειας:

- Άγαρ τρυπτόνης σόγιας (τρυπτικό άγαρ σόγιας) με 5% αίμα προβάτου (αίμα TSA)
- Άγαρ Columbia με 5% αίμα προβάτου
- Άγαρ Mueller Hinton

Διαδικασίες ελέγχου

1. Το στέλεχος ελέγχου υποκαλλιεργείται σε τρυβλίο καλλιέργειας. Επωάστε το τρυβλίο αποβραδίς στους 33-35 °C για 18-24 ώρες.
2. Ακολουθήστε τη Διαδικασία εξέτασης που ακολουθεί.

Διαδικασία εξέτασης

Εάν φυλάσσονται στο ψυγείο, αφήστε τα αντιδραστήρια και τις δοκιμαστικές ταινίες να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου (15-30 °C) πριν την εξέταση.

Η δοκιμασία μπορεί να εκτελεστεί από καλά απομονωμένες αποικίες στο αρχικό τρυβλίο, αν υπάρχει επαρκής ανάπτυξη ή από μια υποκαλλιέργεια του απομονωμένου στελέχους.

1. Κρατώντας κάθετα τη σταγονομετρική φιάλη, προσθέστε δύο σταγόνες από το Αντιδραστήριο 1 σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα.
2. Γεμίζοντας ένα βακτηριολογικό κρίκο 1 ml (ενοφθαλμισμός μεγάλης συγκέντρωσης), συλλέξτε δείγμα από καλά απομονωμένες αποικίες στο τρυβλίο καλλιέργειας, τοποθετήστε το στο σωλήνα και αναμείξτε πολύ καλά.
3. Κρατώντας κάθετα τη σταγονομετρική φιάλη, προσθέστε δύο σταγόνες από το Αντιδραστήριο 2 σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα.
4. Φυγοκεντρίστε σύντομα σε vortex. Το κυανό διάλυμα πρέπει να γίνει διάφανο (εάν το χρώμα δεν αλλάξει, προσθέστε μία ακόμα σταγόνα από το Αντιδραστήριο 2 και αναμείξτε έως ότου το διάλυμα γίνει διάφανο).
5. Βάλτε τη δοκιμαστική ταινία μέσα στο δοκιμαστικό σωλήνα με τα βέλη στραμμένα προς τα κάτω.
6. Μετά από πέντε (5) λεπτά, αποσύρατε τη δοκιμαστική ταινία από το σωλήνα και διαβάστε το αποτέλεσμα της δοκιμασίας.

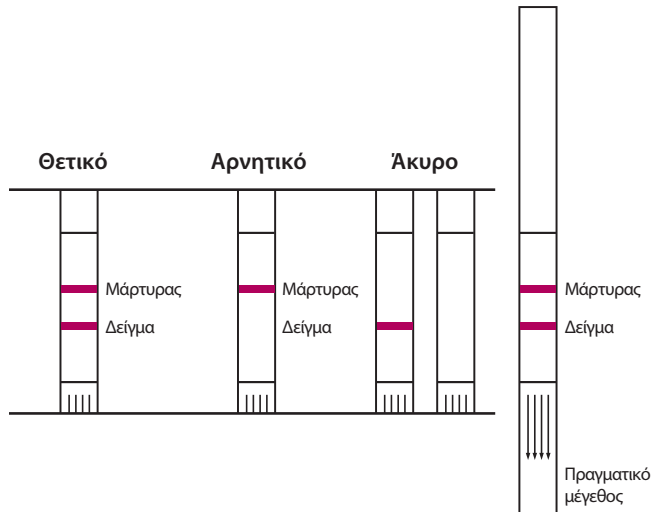
Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Εάν χρειάζεστε βοήθεια στην ερμηνεία της δοκιμαστικής ταινίας, ανατρέξτε στην Εικόνα για την Ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Για **Αρνητικό δείγμα**, εμφανίζεται μια POZ/MOB γραμμή στη θέση Μάρτυρα στο επάνω μισό μέρος της δοκιμαστικής ταινίας. Δεν εμφανίζεται άλλη γραμμή.

Για **Θετικό δείγμα**, εμφανίζεται μια POZ/MOB γραμμή στη θέση Μάρτυρα ΚΑΙ μια δεύτερη POZ/MOB γραμμή στο κάτω μισό μέρος της δοκιμαστικής ταινίας. Οποιαδήποτε γραμμή Δείγματος, ακόμη και αν είναι αχνή, είναι θετική.

Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας είναι **Άκυρο** εάν δεν εμφανίζεται POZ/MOB γραμμή στη θέση Μάρτυρα, ανεξάρτητα από το αν εμφανίζεται γραμμή δείγματος. Επαναλάβετε τις άκυρες εξετάσεις με νέα δοκιμαστική ταινία. Εάν το πρόβλημα παραμένει, επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη Alere™.



Αναφορά αποτελεσμάτων

Αποτέλεσμα	Προτεινόμενη αναφορά
Θετικό	Θετικό για PBP2a
Αρνητικό	Αρνητικό για PBP2a
Άκυρο	Απροσδιόριστο, μην αναφέρετε. Επανεξετάστε το δείγμα και αν το πρόβλημα επιμένει, επικοινωνήστε με την Τεχνική Υπηρεσία της Alere™.

Κλινική απόδοση

Η κλινική απόδοση της Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test έχει τεκμηριωθεί σε μία πολυκεντρική κλινική μελέτη που διεξήχθη το 2013 σε τρία (3) γεωγραφικά διάσπαρτα εργαστήρια.

Συνολικά, αξιολογήθηκαν 454 δείγματα *S. aureus* με τη Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test, σε σύγκριση με τα αποτελέσματα από δίσκο διάχυσης 30 µg cefoxitin και ερμηνεύτηκαν σύμφωνα με τα πρότυπα CLSI. Η απόδοση της Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test έναντι του δίσκου διάχυσης cefoxitin, καθώς επίσης το διάστημα εμπιστοσύνης 95% και η στρωματοποίηση ανά τύπο τρυβλίου καλλιέργειας δίνονται στον Πίνακα 1.

Όλοι οι καθημερινοί θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι παρήγαγαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα.

Πίνακας 1: Η απόδοση της Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test έναντι του Δίσκου διάχυσης cefoxitin (30 µg) σε Απομονωμένα Στελέχη *S. aureus* : Αποτελέσματα ανά τύπο τρυβλίου

Τύπος τρυβλίου	Ευαισθησία	95% C.I.	Ειδικότητα	95% C.I.
Αρχικό τρυβλίο ¹	100,0% (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5% (134/136)	(94,8, 99,6)
Τρυπτικό άγαρ σόγιας με 5% αίμα προβάτου	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Άγαρ Columbia με 5% αίμα προβάτου	98,6% (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Mueller Hinton με επαγωγή 30 µg cefoxitin	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6% (238/239)	(97,7, 99,9)

1: Η Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test πραγματοποιήθηκε από τα αρχικά τρυβλία στα 2 από τα 3 κλινικά κέντρα. Τα αρχικά τρυβλία ήταν είτε με Τρυπτικό άγαρ σόγιας ή με Άγαρ Columbia, με εξαίρεση δύο δειγμάτων αγνώστου τύπου τρυβλίου.

Απόδοση της ανάλυσης













Αντιδραστικότητα και ειδικότητα της ανάλυσης

162 στελέχη ανθεκτικού στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA) και 112 στελέχη ευαίσθητου στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MSSA) εξετάστηκαν με τη Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test με αναμενόμενα αποτελέσματα. Αυτά τα βακτηριακά στελέχη ελήφθησαν από το Δίκτυο Αντιμικροβιακής Αντίστασης στον *Staphylococcus aureus* (NARSA), τη Συλλογή Καλλιιεργειών Αμερικανικού Τύπου (ATCC) και μια συλλογή στελεχών από το Τμήμα Επιδημιολογίας Λοιμωδών Νόσων του Imperial College στο Λονδίνο. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα απομονωμένα στελέχη δεν καλλιιεργήθηκαν χρησιμοποιώντας τρυβλία με άγαρ Columbia. Όλοι οι καθημερινοί θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι παρήγαγαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα.

Μελέτη αναπαραγωγιμότητας

Μια μελέτη της Aleré™ PBP2a SA Culture Colony Test διεξήχθη σε 3 ξεχωριστά κέντρα, χρησιμοποιώντας σετ τυφλά κωδικοποιημένων δειγμάτων, που περιελάμβαναν θετικά και αρνητικά δείγματα, εις διπλούν για κάθε σετ. Καθένα από τους συμμετέχοντες εξέταζε ένα σετ σε 5 διαφορετικές ημέρες. Τα αναμενόμενα αποτελέσματα των εξετάσεων ήταν 100,0% (600/600) σύμφωνα μεταξύ τους. Δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές στην εξέταση (αντίγραφα που εξετάστηκαν από ένα χειριστή), μεταξύ των ημερών εξέτασης (5 διαφορετικές ημέρες), ανάμεσα στα κέντρα (3 κέντρα) ή μεταξύ των χειριστών (6 χειριστές). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα απομονωμένα στελέχη δεν καλλιιεργήθηκαν χρησιμοποιώντας τρυβλία με άγαρ Columbia. Όλοι οι καθημερινοί θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι παρήγαγαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα.

Επεξήγηση συμβόλων

		
Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος για την Ευρωπαϊκή Κοινότητα	Ιατρική συσκευή για <i>in vitro</i> διαγνωστική χρήση
		
Αριθμός καταλόγου	Σήμανση CE	Κατασκευαστής
		
Όρια θερμοκρασίας	Εικονόγραμμα κινδύνου. Βλ. προφυλάξεις.	Το κιτ περιέχει επαρκή υλικά για 25 εξετάσεις
		
Μην επαναχρησιμοποιείτε	Κωδικός παρτίδας	Ημερομηνία λήξης

Πληροφορίες παραγγελιών και στοιχεία επικοινωνίας

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Η.Π.Α.: +1 877 441 7440

Εκτός Η.Π.Α.: +1 321 441 7200

Τεχνική υποστήριξη Συμβουλευτική γραμμή

Για περαιτέρω πληροφορίες, επικοινωνήστε με το διανομέα σας ή με το τμήμα Τεχνικής υποστήριξης Alere™ στα παρακάτω στοιχεία επικοινωνίας:

Η.Π.Α.

1-877-866-9341

TS.SCR@alere.com

Αφρική, Ρωσία και Κοινοπολιτεία Ανεξαρτήτων Κρατών

+972 8 9429 683

ARCISproductsupport@alere.com

Ασία-Ειρηνικός

+61 7 3363 7711

APproductsupport@alere.com

Καναδάς

+1 800 818 8335

CANproductsupport@alere.com

Ευρώπη και Μέση Ανατολή

+44 161 483 9032

EMEproductsupport@alere.com

Λατινική Αμερική

+57 2 6618797

LAPproductsupport@alere.com

 893-000

Παραπομπές

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



PBP2a SA Culture Colony Test

Aplicaciones

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test es un inmunoensayo cromatográfico cualitativo *in vitro* para la detección rápida de la proteína de unión a la penicilina 2a (PBP2A) en colonias identificadas como *Staphylococcus aureus*, como ayuda para identificar *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA).

Resumen y explicación de la prueba

Se sabe que la detección precoz de las infecciones por estafilococos resistentes a la meticilina reduce los costes de la atención sanitaria, resulta esencial para reducir la morbilidad y la mortalidad de los pacientes, reduce el uso empírico de vancomicina y permite tomar decisiones rentables para una gestión óptima de los pacientes.¹

Los métodos convencionales de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana pueden tardar más de 24 horas, y la identificación del gen *mecA* resulta cara y requiere mucho tiempo. Sin embargo, la detección de la proteína de unión a la penicilina 2a (PBP2a) tiene la ventaja sobre *mecA* de identificar cepas que no solo albergan el gen *mecA*, sino que también producen la proteína que confiere resistencia a la meticilina.

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test es un método sencillo y rápido para detectar la proteína PBP2A en colonias de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina.


Principios del procedimiento

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test es un inmunoensayo cromatográfico de membrana rápido que utiliza fragmentos de anticuerpos monoclonales recombinantes (rFabs) altamente sensibles para detectar la proteína PBP2a directamente a partir de colonias bacterianas. Los rFab y una proteína de control se inmovilizan en una membrana de nitrocelulosa en forma de dos líneas definidas y se combinan con una almohadilla de muestra, una almohadilla de conjugado rosa/violeta y una almohadilla de absorción para formar una tira reactiva.

Las muestras de las colonias se obtienen directamente de la placa de cultivo y se eluyen en un tubo de ensayo que contiene el reactivo 1. A continuación, se añade el reactivo 2 y se introduce la tira reactiva en el tubo de ensayo. Los resultados se leen visualmente al cabo de 5 minutos.

Reactivos y materiales

Materiales suministrados en el kit Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

- **Tiras reactivas:** una tira reactiva cubierta con una lámina de plástico con flechas de dirección que indican la posición de prueba correcta.
- **Reactivo 1:** una solución alcalina azul transparente. 
- **Reactivo 2:** una solución transparente y ligeramente ácida que contiene un tampón de azida de sodio y tensioactivos.
- **Tubos de ensayo**
- **Gradillas de prueba**

Materiales necesarios no suministrados:

Reloj, temporizador o cronómetro, asas bacteriológicas, mezclador vorticial y cepas de control externo positivo y negativo.

Controles externos positivo y negativo


Los controles recomendados se indican a continuación. Alternativamente, los laboratorios pueden utilizar cepas de *S. aureus* resistentes y sensibles de uso rutinario, siempre que los resultados del control sean los previstos.

Control positivo: *Staphylococcus aureus*, ATCC n.º 43300

Control negativo: *Staphylococcus aureus*, ATCC n.º 25923

Precauciones

1. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Si están refrigerados, deje que todos los componentes del kit se equilibren a temperatura ambiente (15-30 °C) antes de utilizarlos.
3. Deje las tiras reactivas en la bolsa de papel de aluminio hasta que vaya a utilizarlas.
4. Evite que los reactivos y la tira de prueba entren en contacto con la piel y los ojos.
5. No utilice el kit después de su fecha de caducidad.
6. No intercambie ni mezcle componentes procedentes de diferentes lotes del kit.
7. Como con todas las muestras bacterianas, los controles y las tiras reactivas pueden contener organismos patógenos; manipúlelos con las precauciones adecuadas y deseche los materiales de forma segura en recipientes para residuos biológicos peligrosos.
8. La prueba Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test debe ser realizada exclusivamente con colonias de *Staphylococcus aureus*.

9. El reactivo 1 contiene hidróxido de sodio. Peligro, provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. 
10. Las fichas de datos de seguridad de este producto están disponibles a petición.
11. Cumpla las ordenanzas nacionales, regionales y locales en lo que se refiere a la eliminación de desechos.
12. El reactivo 2 contiene azida de sodio.

Conservación y estabilidad

Conserve los componentes del kit a temperatura ambiente o refrigerados (de 2-30 °C).

El kit Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test y los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad que aparece en el embalaje exterior.

Control de calidad

Control de calidad diario:

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test dispone de controles positivos y negativos para el procedimiento. Alere recomienda que registre estos controles para cada secuencia que realice a fin de realizar los controles de calidad.

Controles de procedimiento:

- A. Una línea de color rosa o violeta en la posición de la "línea de control" se puede considerar un control interno del procedimiento positivo. Si se produce flujo capilar, esta línea aparecerá siempre.
- B. En comparación con el color de la línea de control, el color de fondo en la tira reactiva debe ser de color blanco en un plazo de 5 minutos.

Controles positivos y negativos externos:

Las prácticas correctas de laboratorio recomiendan el uso de los controles positivos y negativos para garantizar que:

- los reactivos de la prueba funcionan y
- la prueba se realiza correctamente.

En cada nuevo lote se deben probar los controles positivos y negativos externos, con los que se supervisará el ensayo completo. Los resultados de estas muestras de control deben registrarse. Consulte la sección Procedimiento de preparación de la muestra para obtener más instrucciones.

Los controles recomendados se indican a continuación. Alternativamente, los laboratorios pueden utilizar cepas de *S. aureus* resistentes y sensibles de uso rutinario, siempre que los resultados del control sean los previstos.

Cepas de control recomendadas:

Control positivo: *Staphylococcus aureus* ATCC n.º 43300

Control negativo: *Staphylococcus aureus* ATCC n.º 25923

Pueden realizarse otros controles para cumplir con

- las normativas locales, regionales o nacionales,
- las instrucciones de organismos de acreditación o
- los procedimientos de control de calidad estándar de su laboratorio.

Si no se obtienen los resultados correctos del control, no notifique los resultados. Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica (consulte la sección Información de contacto y pedidos).

Recogida y manipulación de los especímenes

Las muestras son colonias bacterianas de *Staphylococcus aureus*. Se recomienda el uso de cultivos recientes (<24 horas). No se ha determinado el rendimiento de Alera™ PBP2a SA Culture Colony Test con muestras refrigeradas.

Medios de cultivo

Las colonias de *S. aureus* se pueden analizar en cualquiera de los siguientes medios de cultivo:

- Tryptone Soy Agar (Agar Tripticasa soya) con un 5 % de sangre de oveja (sangre TSA)
- Agar Columbia con un 5 % de sangre de oveja
- Agar Mueller Hinton

Procedimientos del control

1. Subcultive la cepa de control en una placa de cultivo. Incube la placa de un día para otro a 33-35 °C durante 18-24 horas.
2. Siga el procedimiento del ensayo descrito a continuación.

Procedimiento del ensayo

Si están refrigerados, deje que los reactivos y las tiras reactivas se equilibren a temperatura ambiente (15-30 °C) antes del análisis.

La prueba se puede realizar a partir de colonias bien aisladas en la placa principal, si la proliferación es suficiente, o a partir de un subcultivo de la colonia.

1. Sostenga en posición vertical el frasco cuentagotas y añada dos gotas del reactivo 1 a un tubo de ensayo.
2. Tome un asa bacteriológica de 1 µl llena (un inóculo pesado) de la muestra de colonias bien aisladas en la placa de cultivo, colóquela en el tubo y mezcle bien.
3. Sostenga en posición vertical el frasco cuentagotas y añada dos gotas del reactivo 2 al tubo.
4. Agite vorticialmente durante unos instantes. La solución azul debe volverse transparente (si el color no cambia, añada otra gota de reactivo 2 y mezcle hasta que la muestra se vuelva transparente).
5. Introduzca la tira reactiva en el tubo de ensayo con las flechas apuntando hacia abajo.
6. A los cinco (5) minutos, retire la tira reactiva del tubo y lea el resultado del ensayo.

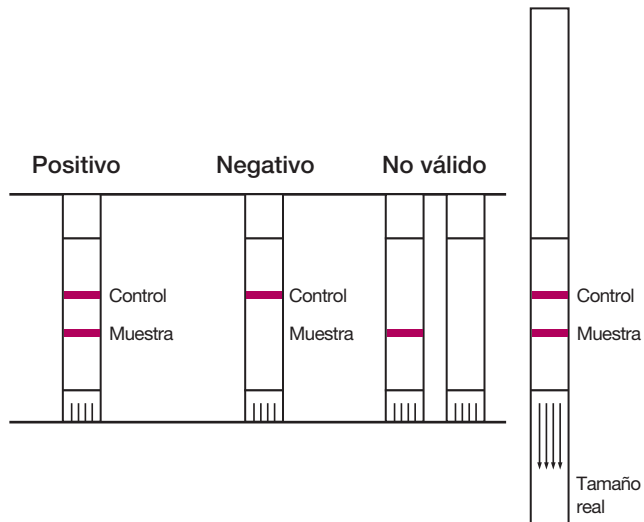
Interpretación del resultado

Para obtener ayuda para la lectura de la tira reactiva, consulte el gráfico de Interpretación del resultado.

Si es una **muestra negativa**, aparece una línea de control ROSA/VIOLETA en la mitad superior de la tira reactiva. No aparecen más líneas.

Si es una **muestra positiva**, aparece una línea de control ROSA/VIOLETA y, ADEMÁS, aparece una segunda línea de muestra ROSA/VIOLETA debajo de la anterior, en la mitad inferior de la tira reactiva. Todas las líneas de muestra, aun cuando sean poco visibles, son positivas.

Una prueba es **no válida** si no aparece la línea de control ROSA/VIOLETA, tanto si hay una línea de muestra o no. Repita las pruebas no válidas con una nueva tira reactiva. Si el problema persiste, llame al servicio de asistencia técnica de Alere™.



Informe de resultados

Resultado	Sugerencia de notificación
Positivo	Positivo para PBP2a
Negativo	Negativo para PBP2a
No válido	Indeterminado; no comunicar. Vuelva a analizar la muestra y, si el problema persiste, llame al servicio de asistencia técnica de Alere™.

Rendimiento clínico

El rendimiento clínico de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test fue establecido en un estudio clínico multicéntrico realizado en tres (3) laboratorios de diferentes países en 2013.

Se evaluaron un total de 454 muestras de *S. aureus* con Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, comparándolas con los resultados de la difusión en disco de cefoxitina de 30 µg y se interpretaron de acuerdo con las normas del CLSI. El rendimiento de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test frente a la difusión en disco de cefoxitina, incluyendo los intervalos de confianza del 95 % estratificado por tipo de placa, se indica en la Tabla 1.

Todos los controles diarios positivos y negativos generaron los resultados previstos.

Tabla 1: Rendimiento de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test frente a difusión en disco de cefoxitina (30 µg) en colonias de *S. aureus*: Resultados por tipo de placa

Tipo de placa	Sensibilidad	I.C. 95 %	Especificidad	I.C. 95 %
Placa principal¹	100,0 % (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5 % (134/136)	(94,8, 99,6)
Agar Tripticasa soya con 5 % de sangre de oveja	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Agar Columbia con un 5 % de sangre de oveja	98,6 % (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Mueller Hinton con inducción de cefoxitina de 30 µg	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6 % (238/239)	(97,7, 99,9)

1: La prueba Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test se realizó a partir de placas principales en 2 de cada 3 centros clínicos. Las placas principales fueron de Agar Tripticasa soya o Agar Columbia, con la excepción de dos muestras de placas de características desconocidas.

Rendimiento analítico













Reactividad y especificidad analíticas

Se analizaron 162 cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA) y 112 cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles a la meticilina (SASM) con Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test con los resultados previstos. Estas cepas bacterianas se obtuvieron de Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA), American Type Culture Collection (ATCC) y una colección de cepas del Departamento de Epidemiología de Enfermedades Infecciosas del Imperial College de Londres, Inglaterra. Tenga en cuenta que las colonias aisladas no fueron cultivadas utilizando placas de agar Columbia. Todos los controles diarios positivos y negativos generaron los resultados previstos.

Estudio de reproducibilidad

Se llevó a cabo un estudio de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test en 3 centros independientes usando paneles de muestras ciegas en clave que contenían muestras negativas y positivas por duplicado para cada panel. Los participantes analizaron cada uno un panel en 5 días diferentes. Hubo un 100,0 % (600/600) de acuerdo con los resultados previstos de la prueba. No existieron diferencias significativas en una misma secuencia (réplicas analizadas por un operador), entre secuencias (5 días diferentes), entre centros (3 centros) o entre operadores (6 operadores). Tenga en cuenta que las colonias no fueron cultivadas utilizando placas de agar Columbia. Todos los controles diarios positivos y negativos generaron los resultados previstos.

Símbolos

		
Consultar las instrucciones de uso	Representante autorizado en la Comunidad Europea	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
		
Número de catálogo	Marcado CE	Fabricante
		
Limitación de temperatura	Pictograma de riesgo. Consulte las precauciones.	El kit contiene material suficiente para 25 pruebas
		
No reutilizar	Código de lote	Utilizar antes de

Información de contacto y pedidos

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

EE. UU.: 1 877 441 7440

Fuera de EE. UU.: +1 321 441 7200

Asistencia técnica

Más información

Puede obtener más información a través de su distribuidor o poniéndose en contacto con el servicio técnico de Alere™:

EE. UU.

1-877-866-9341

TS.SCR@alere.com

África, Rusia, CEI

+972 8 9429 683

ARCISproductsupport@alere.com

Asia y Océano Pacífico

+61 7 3363 7711

APproductsupport@alere.com

Canadá

+1 800 818 8335

CANproductsupport@alere.com

Europa y Oriente Medio


+44 161 483 9032

EMEprouductsupport@alere.com

América Latina

+57 2 6618797

LAprouductsupport@alere.com

 893-000

Referencias

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Käyttötarkoitus

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test on kvalitatiivinen, immunokromatografinen *in vitro* -testi penisilliiniä sitovan 2a (PBP2a) -proteiinin nopeaan havaitsemiseen *Staphylococcus aureus* -bakteereiksi tunnistetuissa isolaateissa apuna metisilliini-resistentin *Staphylococcus aureuksen* (MRSA) tunnistamisessa.

Yhteenveto ja testin selvitys

Metisilliiniresistenttien stafylokokki-infektioiden varhaisen havaitsemisen tiedetään vähentävän terveydenhoitokustannuksia, olevan ratkaiseva tekijä pyrkimyksissä vähentää potilaiden morbiditeettia ja mortaliteettia, vähentävän vankomysiinin empiiristä käyttöä ja mahdollistavan kustannustehokkaiden päätösten tekemisen potilaiden optimaalista hoitoa varten.¹

Mikrobilääkeherkkyden testaaminen konventionaalisilla menetelmillä saattaa kestää yli 24 tuntia ja *mecA*-geenin tunnistaminen on kallista ja aikaa vievää. Penisilliiniä sitovan 2a (PBP2a) -proteiinin havaitsemisella on kuitenkin etunsa verrattuna *mecA*-geenimenetelmään, koska sillä voidaan tunnistaa kantoja, jotka paitsi sisältävät *mecA*-geeniä, myös tuottavat metasilliiniresistenssin antavaa proteiiniä.

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test on yksinkertainen ja nopea tapa havaita metisilliiniresistentin *Staphylococcus aureuksen* isolaateissa esiintyvä PBP2a-proteiini.


Menetelmän periaate

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test on nopea, immunokromatografinen membraanikoe, jossa käytetään äärimmäisen herkkiä, rekombinantteja monoklonaalisia vasta-ainefragmentteja (rFabs), joilla PBP2a-proteiini havaitaan suoraan bakteeri-isolaateista. rFab-fragmentit ja kontrolliproteiini immobilisoidaan nitroselluloosamembraanille kahtena erillisenä rivinä ja testiliuska muodostetaan yhdessä näytetyynyn, vaaleanpunaisen/purppuranpunaisen konjugaattityynyn, sekä absorptiotyydyn kanssa.

Isolaatit otetaan suoraan viljelymaljalta ja eluoidaan reagenssia 1 sisältävässä koeputkessa. Sitten lisätään reagenssi 2 ja testiliuska asetetaan koeputkeen. Tulokset voi lukea 5 minuutin kuluttua.

Reagenssit ja materiaalit

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testipakkauksen sisältämät materiaalit

- **Testiliuskat:** Muovikerroksella pinnoitettu testiliuska, jossa on testaussuuntaa osoittavat suuntanuolet.
- **Reagenssi 1:** Kirkas, sininen emäksinen liuos. 
- **Reagenssi 2:** Kirkas, hiukan hapan liuos, joka sisältää natriumatsidipuskurin ja pinta-aktiivisia aineita.
- **Koeputket**
- **Testaustelineet**

Tarvittavat pakkaukseen kuulumattomat materiaalit:

Kello, ajastin tai sekuntikello, bakteriologiset silmukat, Vortex-sekoitin ja ulkoiset positiiviset ja negatiiviset kontrolliliikannat.


Ulkoiset positiiviset ja negatiiviset kontrollit

Suosittelvat kontrollit on lueteltu alla. Laboratoriot voivat vaihtoehtoisesti käyttää tavallisesti käytettyjä resistenttejä ja sensitiivisiä *S. aureus* -kantoja, edellyttäen, että kontrollitulokset vastaavat odotuksia.

Positiivinen kontrolli: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negatiivinen kontrolli: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Varotoimet

1. Vain *in vitro* -diagnostiseen käyttöön.
2. Mikäli tuote jäädytetään, anna kaikkien pakkauksen komponenttien palautua huoneenlämpöön (15–30 °C) ennen käyttöä.
3. Säilytä koeliuskaa suljetussa foliopussissaan aina käyttöhetken asti.
4. Vältä reagenssien ja testiliuskan kosketusta ihoon tai silmiin.
5. Älä käytä pakkausta sen viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
6. Älä yhdistele tai sekoita eri pakkauserien komponentteja.
7. Kuten kaikkien bakteerinäytteiden tapauksessa, kontrollit ja testiliuskat saattavat sisältää patogeenisiä organismeja. Käsittele niitä asianmukaisia varotoimia noudattaen ja hävitä materiaalit turvallisesti biovaarallisille jätteille tarkoitetuissa astioissa.
8. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testin saa suorittaa ainoastaan *Staphylococcus aureus* -isolaateilla.
9. Reagenssi 1 sisältää natriumhydroksidia.  Vaara, aiheuttaa vakavia ihon palovammoja ja silmävaurioita.
10. Tämän tuotteen käyttöturvallisuustiedote on saatavana pyynnöstä.
11. Noudata oman maasi kansallisia, alueellisia ja paikallisia määräyksiä jätteiden hävittämisestä.

12. Reagenssi 2 sisältää natriumatsidia.

Säilytys ja säilyvyys

Säilytä pakkauksen komponentteja huoneenlämmössä tai jäädytettyinä (2–30 °C).

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testipakkaus ja reagenssit säilyvät ulkopakkaukseen merkittyyn viimeiseen käyttöpäivään asti.

Laadunvalvonta

Päivittäinen laadunvalvonta:

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testissä on sisäänrakennetut positiiviset ja negatiiviset menettelykontrollit. Laadunvalvonnan vuoksi Alere suosittelee, että tallennat nämä kontrollit jokaisella testin käyttökerralla.

Menettelykontrollit:

- A. Vaaleanpunaisen/purppuranpunaisen viivan ilmestymistä "kontrolliviivalle" pidetään sisäisenä positiivisena menettelykontrollina. Tämä viiva ilmestyy aina silloin, kun on tapahtunut kapillaarivirtaama.
- B. Verrattuna kontrolliviivan väriin, testiliuskan taustaväriin tulisi olla valkoinen 5 minuutin kuluessa.

Ulkoiset positiiviset ja negatiiviset kontrollit:

Hyvien laboratorikäytäntöjen mukaisesti positiivisia ja negatiivisia kontrolleja käytetään varmistamaan, että:

- testireagenssit toimivat ja
- testi suoritetaan oikein.

Ulkoiset positiiviset ja negatiiviset kontrollit tulisi testata jokaiselle uudelle erälle. Niillä seurataan koko koetta. Näiden kontrollinäytteiden tulokset tulisi tallentaa. Katso lisäohjeita osiosta Näytteen valmistelumenettely.

Suosittelavat kontrollit on lueteltu alla. Laboratoriot voivat vaihtoehtoisesti käyttää tavallisesti käytettyjä resistenttejä ja sensitiivisiä *S. aureus* -kantoja, edellyttäen, että kontrollitulokset vastaavat odotuksia.

Suosittelavat kontrollikannat:

Positiivinen kontrolli: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Negatiivinen kontrolli: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Muita kontrolleja voidaan käyttää vaatimustenmukaisuuden täyttämiseksi seuraaville:

- paikalliset, kansalliset ja/tai liittovaltion säännökset
- akkreditointiryhmät, ja/tai
- oman laboratoriosi standardit laatuvalvonnan menettelyt.

Jos oikeita kontrollituloksia ei saada, älä raportoi tuloksia. Ota yhteyttä tekniseen tukeen (katso lisätietoja tilauksia ja yhteystietoja koskevasta osiosta).

Näytteen ottaminen ja käsittely

Näytteet ovat *Staphylococcus aureuksen* bakteeri-isolaatteja. Tuoreiden (<24 tuntia) viljelmien käyttäminen on suositeltavaa. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testin suorittamista ei ole määritetty käytettäväksi jäädytetyillä näytteillä.

Kasvatusalustat

S. aureus -pesäkkeitä voidaan testata kaikista seuraavista kasvatusalustoista:

- tryptoni-soija-agar (tryptinen soija-agar), jossa on 5 % lampaanverta (TSA-verta)
- Columbia-agar, jossa on 5 % lampaanverta
- Mueller-Hinton agar

Kontrollimenetelmät

1. Jatkoviljele kontrollikanta viljelymaljalle. Inkuboi maljaa yli yön 33–35 °C:ssa 18–24 tunnin ajan.
2. Noudata alla ilmoitettua koemenettelyä.

Koemenettely

Mikäli tuote on jäädytetty, anna kaikkien reagenssien ja testiliuskojen palautua huoneenlämpöön (15–30 °C) ennen testausta.

Testi voidaan suorittaa hyvin eristetyistä pesäkkeistä ensisijaisella maljalla, jos kasvua on riittävästi, tai isolaatin jatkoviljelmästä.

1. Pitele tippapulloa pystysuorassa asennossa ja lisää kaksi tippaa reagenssia 1 koeputkeen.
2. Ota yksi täysi 1 µl bakteriologinen silmukallinen (raskas inokulaatti) näytettä hyvin eristetyistä pesäkkeistä viljelymaljalla, sijoita se putkeen ja sekoita perusteellisesti.
3. Pitele tippapulloa pystysuorassa asennossa ja lisää kaksi tippaa reagenssia 2 koeputkeen.
4. Sekoita Vortex-laitteessa nopeasti. Sinisen liuoksen tulee muuttua väriltään kirkkaaksi (jos väri ei muutu, lisää vielä yksi tippa reagenssia 2 ja sekoita, kunnes liuos kirkastuu).
5. Sijoita testiliuska koeputkeen siten, että nuolet osoittavat alaspäin.
6. Viiden (5) minuutin kuluttua poista testiliuska putkesta ja lue koetulos.

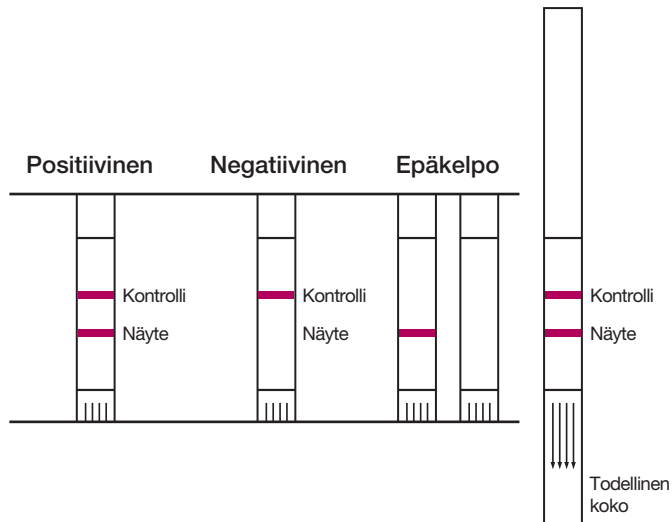
Tuloksen tulkitseminen

Testiliuskan lukemisen helpottamiseksi katso tulosten tulkintakaaviota.

Jos **näyte on negatiivinen**, VAALEANPUNAINEN/PURPPURANPUNAINEN kontrolliviiva ilmestyy testiliuskan ylem্পään puoliskoon. Mitään muita viivoja ei näy.

Jos **näyte on positiivinen**, VAALEANPUNAINEN/PURPPURANPUNAINEN kontrolliviiva ilmestyy näkyviin JA toinen VAALEANPUNAINEN/PURPPURANPUNAINEN näyteviiva ilmestyy sen alapuolelle, testiliuskan alempaan puoliskoon. Kaikki näyteviivat ovat positiivisia, vaikka ne olisivatkin heikkoja.

Testi on **epäkelpo**, jos VAALEANPUNAINEN/PURPPURANPUNAINEN kontrolliviiva ei ilmesty näkyviin, olipa näyteviiva näkyvissä tai ei. Toista epäkelpot testit uudella testiliuskalla. Soita Alere™:n tekniseen tukeen, jos ongelma jatkuu.



Tulosten raportointi

Tulos

Positiivinen

Negatiivinen

Epäkelpo

Ehdotettu raportti

Positiivinen PBP2a:lle

Negatiivinen PBP2a:lle

Määrittämätön, älä raportoi. Testaa näyte uudelleen ja ota yhteyttä Alere™:n tekniseen tukeen, jos ongelma jatkuu.

Kliininen suorituskyky

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testin kliininen suorituskyky määritettiin kliinisessä monikeskustutkimuksessa, joka toteutettiin vuonna 2013 kolmessa (3) maantieteellisesti eriävässä laboratoriossa.

Yhteensä 454 *S. aureus* -näytettä arvioitiin Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testillä, verrattiin 30 µg:n kefoksitiinin diffuusioon maljalla ja tulkittiin CLSI-standardien mukaisesti. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testin suorituskyky verrattuna kefoksitiinin diffuusioon maljalla, mukaan lukien 95 % luottamusvälit ja osittuna maljan tyypin mukaan, on ilmoitettu taulukossa 1.

Kaikki päivittäiset positiiviset ja negatiiviset kontrollit antoivat odotetut tulokset.

Taulukko 1: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testin suorituskyky verrattuna kefoksitiinin (30 µg) diffuusioon maljalla *S. aureus* -isolaateissa: Tulokset maljatyypeittäin

Maljatyypit	Herkkyys	95 % C.I.	Spesifisyys	95 % C.I.
Ensisijainen malja¹	100,0 % (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5 % (134/136)	(94,8, 99,6)
Tryptinen soija-agar, jossa 5 % lampaanverta	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Columbia-agar, jossa 5 % lampaanverta	98,6 % (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Mueller-Hinton, jossa 30 µg kefoksitiini-induktio	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6 % (238/239)	(97,7, 99,9)

1: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test suoritettiin ensisijaisista kasvatusmaljoista kahdessa kolmesta kliinisestä tutkimuspaikasta. Ensisijaiset kasvatusmaljat olivat joko tryptinen soija-agar tai Columbia-agar, lukuun ottamatta kahta näytettä, joiden maljatyypit oli tuntematon.

Analyttinen suorituskyky













Analyttinen reaktiivisuus ja spesifisyys

162 metisilliiniresistenttiä *Staphylococcus aureus* (MRSA) -kanta ja 112 metisilliiniherkkää *Staphylococcus aureus* (MSSA) -kanta testattiin Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testillä odotetuin tuloksin. Nämä bakteerikannat saatiin Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* -verkosta (NARSA), American Type Culture Collection -kokoelmasta (ATCC) ja Lontoon Imperial Collegen tartuntatautien epidemiologian osaston kantakokoelmasta Englannista. Huomioi, että testattuja isolaatteja ei viljelty Columbia-agarimaljoilla. Kaikki päivittäiset positiiviset ja negatiiviset kontrollit antoivat odotetut tulokset.

Uusittavuustutkimus

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test -testin tutkimus suoritettiin kolmessa erillisessä tutkimuspaikassa käyttäen sokkokoodattuja näytenäytteitä, jotka sisälsivät negatiivisia ja positiivisia näytteitä kaksinkertaisen määrän joka paneelille. Jokainen osallistuja testasi yhden paneelin 5 eri päivänä. Tulokset vastasivat 100,0 %:sti (600/600) odotettuja testaustuloksia. Mitään merkittäviä eroja ei havaittu testikertojen puitteissa (yhden testaajan testaamat rinnakkaiskokeet), eri testikertojen välillä (5 eri päivänä), eri tutkimuspaikkojen välillä (3 tutkimuspaikkaa) tai eri testaajien välillä (6 testaajaa). Huomioi, että testattuja isolaatteja ei viljelty Columbia-agarimaljoilla. Kaikki päivittäiset positiiviset ja negatiiviset kontrollit antoivat odotetut tulokset.

Symbolit

		
Ks. lisätietoja käyttöohjeesta	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä	<i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinnälinen laite
		
Luettelonumero	CE-merkintä	Valmistaja
		
Lämpötilarajoitus	Vaarasta kertova symboli Katso varoitimet.	Pakkaus sisältää 25 testaukseen riittävät materiaalit
		
Älä käytä uudelleen	Eräkoodi	Viimeinen käyttöpäivä

Tilaus- ja yhteystiedot

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Yhdysvalloissa: 1 877 441 7440

Yhdysvaltojen ulkopuolella: +1 321 441 7200

Tekninen tuki

Neuvontapuhelin

Saat lisätietoja jälleenmyyjältäsi tai ottamalla yhteyttä Alere™:n tekniseen tukeen seuraavasti

Yhdysvalloissa

1-877-866-9341

TS.SCR@alere.com

Afrikka, Venäjä, IVY

+972 8 9429 683

ARCISproductsupport@alere.com

Aasia ja Tyynenmeren alue

+61 7 3363 7711

APproductsupport@alere.com

Kanada

+1 800 818 8335

CANproductsupport@alere.com

Eurooppa ja Lähi-itä


+44 161 483 9032

EMEproductsupport@alere.com

Latinalainen Amerikka

+57 2 6618797

LAproductsupport@alere.com

 893-000

Viitteet

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Utilisation prévue

Le test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test est un dosage immunochromatographique qualitatif *in vitro* pour la détection rapide de la protéine 2a de liaison à la pénicilline (PBP2a) dans les isolats identifiés comme *Staphylococcus aureus* afin de faciliter l'identification du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM).

Résumé et explication du test

Il est avéré que la détection précoce des infections à staphylocoques résistants à la méthicilline abaisse les coûts des soins de santé, joue un rôle essentiel dans le cadre des efforts visant à diminuer la morbidité et la mortalité des patients, réduit l'utilisation empirique de la vancomycine et permet la prise de décisions rentables pour une prise en charge optimale des patients.¹

Les méthodes traditionnelles de test de sensibilité aux agents antimicrobiens peuvent durer plus de 24 heures et l'identification du gène *mecA* est onéreuse et chronophage. La détection de la protéine de liaison 2a à la pénicilline (PBP2a) présente toutefois comme avantage sur le *mecA* d'identifier les souches qui non seulement abritent le gène *mecA*, mais produisent également la protéine qui confère une résistance à la méthicilline.

Le test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test offre une méthode simple et rapide de détection de la protéine PBP2a présente dans les isolats du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.


Principes de la procédure

Le test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test est un test immunochromatographique rapide sur membrane qui utilise des fragments d'anticorps monoclonaux recombinants hautement sensibles (rFab) pour détecter la protéine PBP2a directement à partir des isolats bactériens. Le rFab et une protéine de contrôle sont immobilisés sur une membrane de nitrocellulose sur deux lignes distinctes et associés à un tampon d'échantillon, à un tampon de conjugué rose/violet et à un tampon d'absorption pour former une bandelette réactive.

Les isolats sont prélevés directement à partir de la plaque de culture et élués dans un tube de dosage contenant le réactif 1. Le réactif 2 est ensuite ajouté et la bandelette réactive est placée dans le tube de dosage. Les résultats sont lus visuellement après 5 minutes.

Réactifs et matériels

Matériels fournis dans le kit Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

- **Bandelettes réactives** : Une bandelette réactive recouverte d'un revêtement en plastique avec des flèches directionnelles pour indiquer la position de test.
- **Réactif 1** : Une solution alcaline bleue transparente. 
- **Réactif 2** : Une solution transparente légèrement acide contenant un tampon d'azide de sodium et des tensioactifs.
- **Tubes de dosage**
- **Portoirs de test**

Matériels requis, mais non fournis :

Horloge, minuteur ou chronomètre, anses bactériologiques, agitateur vortex et souches de contrôles positifs et négatifs externes.


Contrôles positifs et négatifs externes

Les contrôles recommandés sont énumérés ci-dessous. Les laboratoires peuvent également utiliser les souches de *S. aureus* résistant et sensible couramment utilisées, sous réserve que les résultats des contrôles soient conformes aux prévisions.

Contrôle positif : *Staphylococcus aureus*, ATCC 43300

Contrôle négatif : *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923

Précautions

1. Pour usage diagnostique *in vitro* uniquement.
2. S'ils sortent du réfrigérateur, laisser tous les composants du kit se stabiliser à la température ambiante (15-30 °C) avant l'utilisation.
3. Laisser la bandelette réactive dans sa pochette en aluminium hermétique jusqu'à utilisation.
4. Éviter tout contact cutané et oculaire avec les réactifs et la bandelette réactive.
5. Ne pas utiliser le kit au-delà de sa date d'expiration.
6. Ne pas échanger ou mélanger de composants issus de différents lots de kits.
7. Comme avec tous les échantillons bactériens, les contrôles et les bandelettes réactives peuvent contenir des organismes pathogènes ; les manipuler en observant les précautions appropriées et éliminer le matériel en toute sécurité dans des conteneurs pour déchets présentant un risque biologique.
8. Le test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test doit être effectué uniquement sur des isolats de *Staphylococcus aureus*.
9. Le réactif 1 contient de l'hydroxyde de sodium.
Danger : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. 
10. Les fiches de données de sécurité de ce produit sont disponibles sur demande.
11. Respecter les réglementations locales, régionales et nationales relatives à l'élimination des déchets.
12. Le réactif 2 contient de l'azide de sodium.

Stockage et stabilité

Stocker les composants du kit à température ambiante ou au réfrigérateur (2-30 °C).

Le test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test et les réactifs sont stables jusqu'aux dates d'expiration figurant sur leur emballage externe.

Contrôle de la qualité

Contrôle de la qualité quotidien :

Le test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test comporte des contrôles de procédure positifs et négatifs intégrés. Pour le contrôle de la qualité, Alere vous suggère d'enregistrer ces contrôles pour chaque cycle de test.

Contrôles de procédure :

- A. L'apparition d'une ligne rose/violette à la position de la « ligne de contrôle » peut être considérée comme un contrôle de procédure positif interne. S'il y a bien eu un écoulement capillaire, cette ligne apparaît systématiquement.
- B. Par comparaison avec la couleur de la ligne de contrôle, le fond de la bandelette réactive doit devenir blanc dans les 5 minutes.

Contrôles positifs et négatifs externes :

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation de contrôles positifs et négatifs afin de s'assurer des points suivants :

- les réactifs de test fonctionnent et
- le test est réalisé correctement.

Pour chaque nouveau lot, des contrôles positifs et négatifs externes doivent être testés. Ils permettent de contrôler l'ensemble du dosage. Les résultats de ces échantillons de contrôle doivent être notés. Se référer à la section Procédure de préparation des échantillons pour de plus amples instructions.

Les contrôles recommandés sont énumérés ci-dessous. Les laboratoires peuvent également utiliser les souches de *S. aureus* résistant et sensible couramment utilisées, sous réserve que les résultats des contrôles soient conformes aux prévisions.

Souches de contrôle recommandées :

Contrôle positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

Contrôle négatif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

D'autres contrôles peuvent être testés afin de se conformer aux

- réglementations locales, régionales et/ou nationales,
- exigences des organismes de certification et/ou
- procédures de contrôle de la qualité standard de votre laboratoire.

Si les résultats des contrôles sont incorrects, ne pas établir de compte-rendu des résultats. Contacter l'assistance technique (se référer à la section Commande et contact).

Prélèvement et manipulation des échantillons

Les échantillons sont des isolats bactériens de *Staphylococcus aureus*. L'utilisation de cultures fraîches (<24 heures) est recommandée. Les performances du test Alera™ PBP2a SA Culture Colony Test n'ont pas été établies pour une utilisation avec des échantillons réfrigérés.

Milieux de culture

Les colonies de *S. aureus* peuvent être testées à partir de l'un des milieux de culture suivants :

- Gélose tryptone soja (gélose de soja trypsique) avec 5 % de sang de mouton (sang TSA)
- Gélose Columbia avec 5 % de sang de mouton
- Gélose Mueller Hinton

Procédures de contrôle

1. Effectuer une subculture de la souche de contrôle sur une plaque de culture. Incuber la plaque pendant la nuit à 33-35 °C pendant 18-24 heures.
2. Suivre la procédure de dosage ci-dessous.

Procédure de dosage

S'ils sortent du réfrigérateur, laisser les réactifs et les bandelettes réactives se stabiliser à la température ambiante (15-30 °C) avant le test.

Le test peut être réalisé à partir de colonies bien isolées sur la plaque principale si la croissance est suffisante ou bien à partir d'une subculture de l'isolat.

1. Tout en tenant le flacon compte-gouttes à la verticale, ajouter deux gouttes de réactif 1 à un tube de dosage.
2. Prélever une anse bactériologique de 1 µl pleine (un inoculum épais) d'échantillon à partir de colonies bien isolées sur la plaque de culture, l'introduire dans le tube et bien mélanger.
3. Tout en tenant le flacon compte-gouttes à la verticale, ajouter deux gouttes de réactif 2 au tube.

Agiter brièvement au vortex. La solution bleue doit devenir transparente (si la couleur ne change pas, ajouter une goutte supplémentaire de réactif 2 et mélanger jusqu'à ce que l'échantillon devienne transparent).

4. Insérer la bandelette réactive dans le tube de dosage en dirigeant les flèches vers le bas.
5. Après cinq (5) minutes, retirer la bandelette réactive du tube et lire le résultat du dosage.

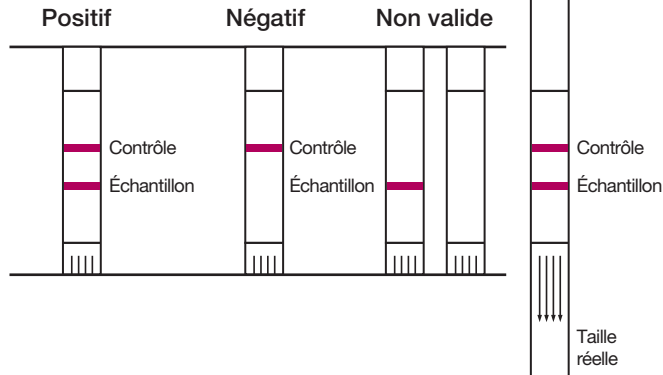
Interprétation des résultats

Pour une aide à la lecture de la bandelette réactive, se référer au graphique de la section Interprétation des résultats.

Pour un **échantillon négatif**, une ligne de contrôle ROSE/VIOLETTE apparaît dans la partie supérieure de la bandelette réactive. Aucune autre ligne n'apparaît.

Pour un **échantillon positif**, la ligne de contrôle ROSE/VIOLETTE apparaît ET une deuxième ligne d'échantillon ROSE/VIOLETTE apparaît sous cette ligne dans la partie inférieure de la bandelette réactive. Une ligne d'échantillon, même très pâle, est positive.

Un test est **non valide** si la ligne de contrôle ROSE/VIOLETTE n'apparaît pas, qu'une ligne d'échantillon soit présente ou non. Répéter les tests non valides avec une bandelette réactive neuve. Appeler le service technique Alere™ si le problème persiste.



Compte-rendu des résultats

Résultat	Suggestion de compte-rendu
Positif	Positif pour PBP2a
Négatif	Négatif pour PBP2a
Non valide	Indéterminé ; ne pas établir de compte-rendu. Retester l'échantillon et contacter le service technique Alere™ si le problème persiste.

Performances cliniques

Les performances cliniques du test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ont été établies lors d'une étude clinique multicentrique menée en 2013 dans trois (3) laboratoires géographiquement dispersés.

Au total, 454 échantillons de *S. aureus* ont été évalués avec le test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, comparés aux résultats de la diffusion sur disque de 30 µg de céfoxitine et interprétés selon les normes du CLSI. Les performances du test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test vs la diffusion sur disque de céfoxitine, incluant les intervalles de confiance à 95 % et la stratification par type de plaque, sont présentées dans le tableau 1.

Tous les contrôles positifs et négatifs quotidiens ont donné les résultats attendus.

Tableau 1 : Performances du test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test vs. la diffusion sur disque de céfoxitine (30 µg) pour des isolats de *S. aureus* : Résultats par type de plaque

Type de plaque	Sensibilité	IC à 95 %	Spécificité	IC à 95 %
Plaque principale¹	100,0 % (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5 % (134/136)	(94,8, 99,6)
Gélose de soja tryptique avec 5 % de sang de mouton	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Gélose Columbia avec 5 % de sang de mouton	98,6 % (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Mueller Hinton avec induction par 30 µg de céfoxitine	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6 % (238/239)	(97,7, 99,9)

1 : Le test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test a été réalisé à partir de plaques principales sur 2 sites cliniques sur 3. Les plaques principales étaient des plaques de gélose de soja tryptique ou de gélose Columbia, à l'exception de deux échantillons dont le type de plaque était inconnu.

Performances analytiques













Réactivité et spécificité analytiques

162 souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) et 112 souches de *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline (SASM) ont été testées avec le test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test et ont produit les résultats attendus. Ces souches bactériennes ont été obtenues auprès du réseau NARSA (Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*), de l'ATCC (American Type Culture Collection) et d'un ensemble de souches provenant du Département d'épidémiologie des maladies infectieuses de l'Imperial College à Londres en Angleterre. Noter que les isolats testés n'ont pas été mis en culture à l'aide de plaques de gélose Columbia. Tous les contrôles positifs et négatifs quotidiens ont donné les résultats attendus.

Étude de reproductibilité

Une étude du test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test a été menée sur 3 sites indépendants avec des panels d'échantillons codés en aveugle contenant des échantillons négatifs et positifs en double pour chaque panel. Les participants ont chacun testé un panel sur 5 jours différents. La concordance avec les résultats de test attendus était de 100,0 % (600/600). Aucune différence significative n'a été observée au cours du même cycle (répliques testées par un opérateur), entre les cycles (5 jours différents), entre les sites (3 sites) ni entre les opérateurs (6 opérateurs). Noter que les isolats testés n'ont pas été mis en culture à l'aide de plaques de gélose Columbia. Tous les contrôles positifs et négatifs quotidiens ont donné les résultats attendus.

Symboles

		
Consulter le mode d'emploi	Représentant autorisé dans la Communauté européenne	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
		
Numéro de catalogue	Marquage CE	Fabricant
		
Limites de température	Pictogramme de danger. Voir les précautions.	Le kit contient des matériels en quantité suffisante pour 25 tests
		
Ne pas réutiliser	Code du lot	À utiliser avant

Commande et contact

893-000 Test Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

États-Unis : 1 877 441 7440

Hors des États-Unis : +1 321 441 7200

Support technique

Assistance téléphonique

Pour de plus amples informations, contacter le distributeur ou l'assistance technique Alere™ aux coordonnées suivantes :

États-Unis

1-877-866-9341 TS.SCR@alere.com

Afrique, Russie et CEI

+972 8 9429 683 ARCISproductsupport@alere.com

Asie-Pacifique

+61 7 3363 7711 APproductsupport@alere.com

Canada


+1 800 818 8335 CANproductsupport@alere.com

Europe et Moyen-Orient

+44 161 483 9032 EMEproductsupport@alere.com

Amérique latine

+57 2 6618797 LAproductsupport@alere.com

 893-000

Références bibliographiques

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Alkalmazási terület

Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt kvalitatív, *in vitro* immunkromatográfias assay a 2a penicillin-kötő fehérje (PBP2a) gyors kimutatására azonosított *Staphylococcus aureus* izolátumokban, a meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) azonosításának segédeszközeként.

Összefoglalás és magyarázat

Ismeretes, hogy a meticillin-rezisztens *Staphylococcus*-fertőzések korai észlelése mérsékli az egészségügyi költségeket, döntő szerepe van a megbetegedések és halálozások számának csökkentésében, visszafogja a vankomicin empirikus használatát és költségghatékony döntéshozatalt tesz lehetővé a betegek optimális kezelése érdekében.¹

A hagyományos antimikrobiális érzékenységi tesztek több mint 24 órát is igénybe vehetnek, a *mecA* gén beazonosítása pedig költséges és időigényes folyamat. Ugyanakkor a 2a penicillin-kötő fehérje (PBP2a) detektálása előnyösebb a *mecA* kimutatásánál, mivel nem csak azokat a törzseket azonosítja, amelyek a *mecA* gént hordozzák, hanem azokat is, amelyek termelik a meticillin-rezisztenciáért felelős fehérjéket.

Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt egyszerű és gyors módszert biztosít a meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* izolátumokban található PBP2a fehérje kimutatására.


Az eljárás elve

Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt olyan gyors immunkromatográfias membrán assay, amely különösen érzékeny rekombináns monoklonális antitest-fragmentumok (rFab) segítségével közvetlenül a baktériumizolátumokból mutatja ki a PBP2a fehérjét. Az rFab és a kontroll fehérje két külön vonalként van rögzítve egy nitrocellulóz membránra, majd az rádolgozva a tesztalagra, egy rózsaszín/lila konjugátum-alapra és egy adszorpció alapra, amelyek együttesen alkotják a tesztcsíkot.

Az izolátumokat közvetlenül a tenyésztől kell mintavételezni, majd egy assay csőbe eluálni, amely már tartalmazza az 1-es reagenst. Ezután kell hozzáadni a 2-es reagenst, majd a tesztcsíkot behelyezni az assay-csőbe. Az eredményeket vizuálisan lehet leolvasni 5 perc múlva.

Reagensok és anyagok

Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt készlet a következő anyagokat tartalmazza:

- **Tesztcsíkok:** Műanyag borítású tesztcsík, amelyen nyílak jelzik a tesztcsík helyes irányát tesztvégzés közben.
- **1-es reagens:** Tiszta, kék, lúgos oldat. 
- **2-es reagens:** Nátrium-azid puffert és felületaktív anyagokat tartalmazó, tiszta, enyhén savas oldat.
- **Assay-csövek**
- **Tesztállványok**

Szükséges, de nem mellékelt anyagok:

Óra, időzítő vagy stopper, oltókacsok, vortex-keverő, továbbá külső pozitív és negatív kontroll törzsek.


Külső pozitív és negatív kontrollok

Az ajánlott kontrollok felsorolását lásd alább. A laboratóriumok más rezisztens és érzékeny *S. aureus* törzseket is használhatnak rutinszerűen, feltéve hogy azok a várt kontrolleredményeket adják.

Pozitív kontroll: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negatív kontroll: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Biztonsági rendelkezések

1. Kizárólag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra.
2. Ha hűtve tárolta, hagyja, hogy a készlet minden eleme elérje a szobahőmérsékletet (15–30 °C), mielőtt használni kezdené.
3. Hagyja a tesztcsíkot a lezárt fóliában egészen a közvetlen felhasználásig.
4. Kerülje a reagensek és a tesztcsík bőrrel vagy szemmel való érintkezését.
5. Ne használjon lejárt szavatossági idejű készletet.
6. Ne cserélje fel és ne keverje össze különböző készletek elemeit.
7. Mint minden baktériummintá, a kontroll és a tesztcsíkok is tartalmazhatnak kórokozó organizmusokat; kezelje ezeket a megfelelő óvatossággal, és a hulladékokat biológiai hulladékgyűjtőben, biztonságosan helyezze el.
8. Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniatesztet kizárólag *Staphylococcus aureus* izolátumokon szabad elvégezni.
9. Az 1-es reagens nátrium-hidroxidot tartalmaz.  VESZÉLY! Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.
10. A termék biztonsági adatlapjait kérésre rendelkezésre bocsátjuk.
11. Kövesse az országos, általános és helyi rendelkezéseket a termék hulladékkezelésével kapcsolatban.

12. A 2-es reagens nátrium-azidot tartalmaz.

Tárolás és stabilitás

A készlet tartalmát szobahőmérsékleten vagy hűtve kell tárolni (2–30 °C).

Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt készlet és a reagensek a külső csomagolásukon megjelölt lejárati időpontig stabilak.

Minőségbiztosítás

Napi minőségbiztosítás:

Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniatesztben beépített pozitív és negatív eljáráskontroll van. Az Alere az javasolja, hogy a minőségbiztosítás érdekében rögzítse ezeket a kontrollokat minden elvégzett teszt esetében.

Eljáráskontroll:

- A. Ha egy rózsaszín/lila vonal jelenik meg a „kontrollvonal” pozícióban, az a belső pozitív eljáráskontrollnak tekinthető. Ha a kapillárisáramlás megindult, ez a vonal mindig megjelenik.
- B. A kontrollvonal színéhez képest a tesztcsík háttérszínének fehérnek kell lennie 5 percen belül.

Külső pozitív és negatív kontrollok:

A helyes laboratóriumi gyakorlat alapján a pozitív és negatív kontrollok azt biztosítják, hogy:

- a tesztreagensek működnek és
- a tesztet helyesen végezték el.

Minden egyes új tételhez le kell tesztelni a külső pozitív és negatív kontrollokat. Ezek fogják nyomon követni az egész assay-t. Ezeknek a kontrollmintáknak az eredményeiket rögzíteni kell. További információkért olvassa el a „Minta-előkészítési eljárás” című részt.

Az ajánlott kontrollok felsorolását lásd alább. A laboratóriumok más rezisztens és érzékeny *S. aureus* törzseket is használhatnak rutinszerűen, feltéve hogy azok a várt kontrolleredményeket adják.

Javasolt kontrolltörzsek:

Pozitív kontroll: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Negatív kontroll: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Más kontrollokat is lehet tesztelni, amennyiben meg kell felelni:

- a helyi, állami és/vagy szövetségi szabályozásnak,
- akkreditációs csoportoknak és/vagy
- a saját laboratóriumában alkalmazott standard minőségellenőrzési eljárásoknak.

Ha a kontroll eredmények nem helyesek, ne jelentse a teszt eredményét. Forduljon a Műszaki szolgálathoz (lásd a „Megrendelési információk és elérhetőségek” részt)

Mintagyűjtés és -kezelés

A minták a *Staphylococcus aureus* baktérium izolátumai. Friss tenyészetek (<24 óra) használata javasolt. Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt működése még nem bizonyított hűtött minták esetén.

Táptalaj

A *S. aureus* kolóniák tesztelése a következő táptalajok bármelyikéről elvégezhető:

- Tryptone Soy Agar (Trypton szója agar) 5% birkavérrel (TSA vér)
- Columbia Agar 5% birkavérrel
- Müller Hinton Agar

Kontroll eljárások

1. Oltsa tovább a kontroll törzset egy tenyésztőlemezre. Inkubálja a lemezt éjszaka 33–35 °C-on, 18–24 órán keresztül.
2. Kövesse az assay menetét az alábbiak szerint.

Az assay menete

Ha a reagensek és a tesztcsíkok hűtve voltak, akkor hagyja, hogy a hőmérsékletük kiegyenlítődjön szobahőmérsékletre (15–30 °C) a tesztelés előtt.

A tesztet el lehet végezni a primer lemez jól elkülönülő kolóniáiból, ha elégséges a növekedés, vagy az izolátum továbboltásából.

1. A cseppentő üveget függőlegesen tartva cseppentsen két cseppet az 1-es reagensből egy assay csőbe.
2. Egy 1 µl-es oltókacccsal vegyen egy halomnyi mintát (nagy inokulumot) a táplemez jól elkülönült kolóniáiból, majd tegye bele a csőbe és alaposan keverje el.
3. A cseppentő üveget függőlegesen tartva cseppentsen két cseppet a 2-es reagensből a csőbe.
4. Röviden keverje el a vortexszel. A kék oldatnak világos színre kell változnia (ha a szín nem változik meg, adjon még egy cseppet a 2-es reagensből és keverje addig, amíg a minta ki nem világosodik).
5. Helyezze be a tesztcsíkot a csőbe úgy, hogy a nyílak lefelé mutassanak.
6. Öt (5) perc elteltével húzza ki a tesztcsíkot a csőből és olvassa le az eredményt.

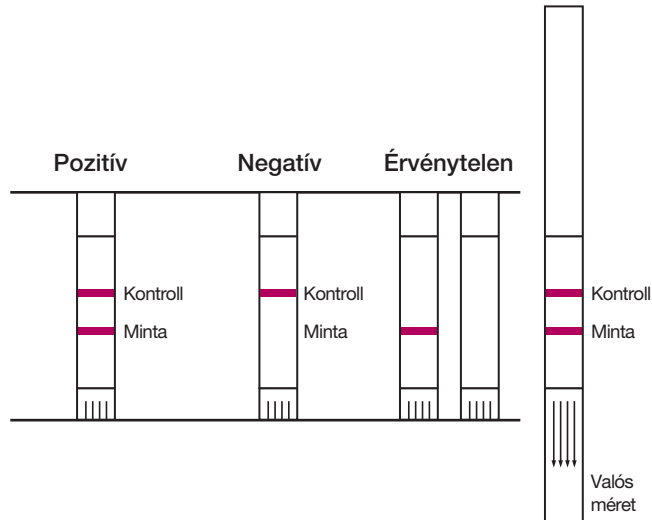
Az eredmények értelmezése

Ha segítségre van szüksége a tesztsík leolvasásához, kövesse az Eredmények értelmezése ábrát.

Az eredmény **Negatív minta**, ha csak a RÓZSASZÍN/LILA kontrollvonal jelenik meg a tesztsík felső felében. Más vonal nem látható.

Az eredmény **Pozitív minta**, ha a RÓZSASZÍN/LILA kontrollvonal megjelenik, ÉS egy második RÓZSASZÍN/LILA mintavonal is feltűnik alatta, a tesztsík alsó felében. Bármilyen mintavonal jelenik meg, még ha nagyon halvány is, akkor is pozitív a minta.

A teszt **Érvénytelen**, ha a RÓZSASZÍN/LILA kontrollvonal nem jelenik meg, függetlenül attól, hogy van-e látható mintavonal vagy sem. Ismétlje meg az érvénytelen tesztet új tesztsíkkal. Hívja fel az Alere™ Műszaki szolgálatát, ha a probléma továbbra is fennáll.



Eredmények jelentése

Eredmény	Javasolt jelentés
Pozitív	PBP2a-ra pozitív
Negatív	PBP2a-ra negatív
Érvénytelen	Határozatlan eredmény, ne jelentse. Végezze el a tesztet újra, és forduljon az Alere™ Műszaki szolgálatához, ha a probléma továbbra is fennáll.

Klinikai jellemzők

Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt klinikai vizsgálata 2013-ban zajlott egy multicentrikus klinikai vizsgálatban három (3) földrajzilag eltérő helyszínű laboratóriumban.

Összesen 454 *S. aureus* minta értékelése zajlott az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniatesztben, egy 30 µg cefoxitines korongdiffúziós vizsgálattal való összehasonlításban, és a CLSI szabványoknak megfelelően értelmezve. Az 1. táblázat mutatja be az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt eredményeit a cefoxitin korongdiffúzióval szemben, 95%-os konfidenciaintervallummal és táptalajtípus szerint lebontva.

Minden pozitív és negatív napi kontroll a várt eredményt hozta.

1. táblázat: Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt eredményei a cefoxitin (30 µg) korongdiffúziós teszttel szemben *S. aureus* izolátumokban: Táptalaj-típusonkénti eredmények

Táptalaj típusa	Érzékenység	95%-os konf. interv.	Specifititás	95%-os konf. interv.
Primer lemez¹	100,0% (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5% (134/136)	(94,8, 99,6)
Tripton szója agar 5% birkavérrel	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Columbia Agar 5% birkavérrel	98,6% (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Müller Hinton 30 µg cefoxitin indukcióval	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6% (238/239)	(97,7, 99,9)

1: Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt a 3 klinikai helyszín közül 2 helyszínen használt primer lemezeket. A primer lemezek vagy Tripton szója agar vagy Columbia Agar voltak, két minta kivételével, amelyek ismeretlen lemezen voltak.

Analitikai jellemzők













Analitikai reaktivitás és specifititás

162 meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* törzs (MRSA) és 112 meticillin-érzékeny *Staphylococcus aureus* törzs (MSSA) vizsgálata folyt az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszttel, és a várt eredmények születtek. Ezek a baktériumtörzsek a *Staphylococcus aureus* rezisztenciát felügyelő hálózatból (NARSA), az Amerikai Típusú Sejtkultúra-gyűjteményből (ATCC) és egy törzs kollektió pedig a londoni Imperial College Fertőző Betegségek Epidemiológiai Osztályáról származtak. Felhívjuk a figyelmét, hogy az izolátumok tenyésztése nem Columbia agar lemezeken történt. Minden pozitív és negatív napi kontroll a várt eredményt hozta.

Reprodukálhatósági vizsgálat

Az Alere™ PBP2a SA Kultúra Kolóniateszt 3 különböző helyszínen zajlott vak kódolású, negatív és pozitív mintákat tartalmazó lemezmintákkal, két példányban minden lemezre. A résztvevők mindegyike egy-egy lemezt vizsgált 5 különböző napon keresztül. A várt eredményekkel való egyezés 100,0% (600/600) volt. Nem volt szignifikáns eltérés a futtatásokon belül (egy kezelő által tesztelt replikák), a futtatások között (5 különböző nap), a helyszínek között (3 helyszín) és a kezelő személyek között sem (6 kezelő). Felhívjuk a figyelmét, hogy az izolátumok tenyésztése nem Columbia agar lemezeken történt. Minden pozitív és negatív napi kontroll a várt eredményt hozta.

Szimbólumok

		
Tekintse meg a használati útmutatót	Meghatalmazott képviselő az Európai Unióban	<i>In vitro</i> orvosi diagnosztikai eszköz
		
Katalógusszám	CE-jelölés	Gyártó
		
Hőmérsékleti korlátok	Veszélyjelzés. Lásd a Biztonsági rendelkezések című részt.	A készlet tartalma 25 teszt elvégzésére elegendő
		
Ne használja fel újra	Tételszám	Lejárat

Megrendelési információk és elérhetőségek

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

USA: 1 877 441 7440

USA-n kívül: +1 321 441 7200

Műszaki szolgálat

Tanácsadás

További információért forduljon a helyi forgalmazóhoz vagy az Alere™ Műszaki szolgálathoz az alábbi elérhetőségen:

USA

1-877-866-9341 TS.SCR@alere.com

Afrika, Oroszország, FÁK

+972 8 9429 683 ARCISproductsupport@alere.com

Ázsiai és csendes-óceáni térség

+61 7 3363 7711 APproductsupport@alere.com

Kanada


+1 800 818 8335 CANproductsupport@alere.com

Európa és Közel-Kelet

+44 161 483 9032 EMEproductsupport@alere.com

Latin-Amerika

+57 2 6618797 LAprproductsupport@alere.com

 893-000

Szakirodalom

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Uso previsto

L'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test è un'analisi immunocromatografica qualitativa *in vitro*, destinata al rilevamento rapido della proteina 2a legante la penicillina (PBP2a), in isolati identificati come *Staphylococcus aureus*, come ausilio nell'identificazione dello *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (MRSA).

Riassunto e spiegazione del test

Il rilevamento tempestivo delle infezioni causate da stafilococco resistente alla meticillina consente di ridurre i costi delle cure sanitarie, cruciali nell'intento di ridurre la morbilità e la mortalità dei pazienti, di moderare l'uso empirico della vancomicina e di prendere decisioni convenienti per la gestione ottimale dei pazienti.¹

Per i metodi tradizionali di analisi della suscettibilità antibatterica possono essere necessarie più di 24 ore, mentre l'identificazione del gene *mecA* è costosa e richiede un'esecuzione dispendiosa in termini di tempo. Tuttavia, il rilevamento della proteina 2a legante la penicillina (PBP2a) è vantaggioso rispetto alla tecnica *mecA*, poiché non solo identifica i ceppi ospiti del gene *mecA*, ma anche quelli che producono la proteina che conferisce resistenza alla meticillina.

L'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test costituisce un metodo semplice e rapido per il rilevamento della proteina PBP2a presente negli isolati di *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina.


Principi della procedura

L'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test è un'analisi immunocromatografica rapida per membrane, che usa i frammenti anticorpali monoclonali ricombinanti altamente sensibili (rFab) per rilevare la proteina PBP2a direttamente dagli isolati batterici. La proteina rFab e quella di controllo sono immobilizzate al di sopra di una membrana di nitrocellulosa, sotto forma di due linee distinte e combinate con un tampone campione, un tampone coniugato rosa/viola e un tampone assorbente per formare una striscia di analisi.

Gli isolati sono campionati direttamente dalla piastra di coltura e versati in una provetta contenente il reagente 1. Si aggiunge quindi il reagente 2, mentre si inserisce la striscia di analisi all'interno della provetta per analisi. I risultati sono letti visivamente dopo 5 minuti.

Reagenti e materiali

Materiali forniti nel kit dell'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

- **Strisce per analisi:** striscia ricoperta da uno strato di plastica con frecce di direzione per indicare la posizione di test.
- **Reagente 1:** soluzione alcalina trasparente, blu. 
- **Reagente 2:** soluzione trasparente lievemente acida, che contiene il tampone sodio azide e tensioattivi.
- **Provette per analisi**
- **Rack per analisi**

Materiali necessari ma non forniti:

Orologio, timer o cronometro, anse da inoculo, agitatore Vortex e ceppi di controllo positivi e negativi esterni.


Controlli esterni positivi e negativi

I controlli raccomandati sono riportati di seguito. In alternativa, i laboratori possono utilizzare i ceppi di *S. aureus* resistenti e sensibili utilizzati di solito, purché i risultati del controllo siano conformi ai valori previsti.

Controllo positivo: *Staphylococcus aureus*, ATCC n. 43300

Controllo negativo: *Staphylococcus aureus*, ATCC n. 25923

Precauzioni

1. Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
2. In caso di conservazione in frigorifero, lasciare che i componenti del kit raggiungano la temperatura ambiente (15-30 °C) prima dell'uso.
3. Lasciare le strisce per analisi nel relativo involucro fino a immediatamente prima dell'uso.
4. Evitare il contatto dei reagenti e della striscia per analisi con pelle e occhi.
5. Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza.
6. Non scambiare o mescolare i componenti appartenenti a kit con lotti diversi.
7. Come con tutti i campioni batterici, i controlli e le strisce di analisi possono contenere organismi patogeni; manipolare adottando le opportune precauzioni e smaltire i materiali in maniera sicura, in contenitori destinati ai rifiuti a rischio biologico.
8. L'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test va eseguito esclusivamente su isolati di *Staphylococcus aureus*.
9. Il reagente 1 contiene idrossido di sodio.
Pericolo, provoca gravi ustioni cutanee e lesioni oculari. 

10. Le schede di sicurezza per questo prodotto sono disponibili su richiesta.
11. Seguire le ordinanze nazionali, regionali e locali in vigore per le normative relative allo smaltimento dei rifiuti.
12. Il reagente 2 contiene sodio azide.

Conservazione e stabilità

Conservare i componenti del kit a temperatura ambiente o in frigorifero (2-30 °C).

Il kit Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test e i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione esterna.

Controllo di qualità

Controllo di qualità giornaliero:

L'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test è dotato di controlli procedurali positivi e negativi. Ai fini del controllo di qualità, Alere consiglia la registrazione di detti controlli per ciascuna analisi.

Controlli procedurali:

- A. La comparsa di una linea rosa/viola dove si trova la “linea di controllo” può essere considerata come un controllo procedurale positivo interno e compare sempre in caso di flusso capillare.
- B. Rispetto al colore della linea di controllo, il fondo della striscia per analisi dovrebbe diventare bianco entro 5 minuti.

Controlli positivi e negativi esterni:

Costituisce buona prassi di laboratorio utilizzare controlli positivi e negativi per accertare:

- il debito funzionamento dei reagenti e
- la corretta esecuzione del test.

Per ciascun nuovo lotto, è necessario procedere all'analisi dei controlli esterni positivi e negativi preposti al monitoraggio dell'intera analisi. Registrare i risultati di tali campioni di controllo. Per ulteriori istruzioni, fare riferimento alla sezione Procedura di preparazione dei campioni.

I controlli raccomandati sono riportati di seguito. In alternativa, i laboratori possono utilizzare i ceppi di *S. aureus* resistenti e sensibili utilizzati di solito, purché i risultati del controllo siano conformi ai valori previsti.

Ceppi di controllo consigliati:

Controllo positivo: *Staphylococcus aureus* ATCC n. 43300

Controllo negativo: *Staphylococcus aureus* ATCC n. 25923

È possibile sottoporre a test altri controlli per garantire la conformità alle

- normative locali, regionali e/o nazionali,
- ai gruppi di accreditamento e/o
- alle procedure standard per il controllo di qualità vigenti presso il laboratorio in cui si opera.

Non registrare i risultati di controllo non corretti. Rivolgersi all'assistenza tecnica (fare riferimento alla sezione Recapiti e informazioni per ordinare).

Raccolta e manipolazione dei campioni

I campioni sono isolati batterici di *Staphylococcus aureus*. Si consiglia di utilizzare colture fresche (<24 ore). Le prestazioni dell'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test non sono state stabilite per l'uso su campioni refrigerati.

Terreni di coltura

È possibile analizzare le colonie di *S. aureus* da uno dei seguenti terreni di coltura:

- Tryptone Soy Agar (Agar soia triptico) con il 5% di sangue di montone (sangue TSA)
- Agar Columbia con il 5% di sangue di montone
- Agar Mueller Hinton

Procedure di controllo

1. Preparare una coltura secondaria del ceppo di controllo su una piastra di coltura. Incubare la piastra per una notte a 33-35 °C per 18-24 ore.
2. Seguire la procedura dell'analisi riportata di seguito.

Procedura dell'analisi

In caso di conservazione in frigorifero, lasciare che i reagenti e le strisce per analisi raggiungano la temperatura ambiente (15-30 °C) prima dell'esecuzione del test.

È possibile eseguire il test da colonie ben isolate sulla piastra principale se vi è crescita sufficiente, oppure da una coltura secondaria dell'isolato.

1. Reggendo il flacone contagocce in verticale, aggiungere due gocce di reagente 1 in una provetta.
2. Prelevare 1 µl di campione mediante un'ansa da inoculo colma (un inoculo denso) da colonie ben isolate sulla piastra di coltura, versarlo nella provetta e mescolare accuratamente.
3. Reggendo il flacone contagocce in verticale, aggiungere due gocce di reagente 2 nella provetta.
4. Agitare brevemente su Vortex. La soluzione blu deve diventare trasparente (se il colore non cambia, aggiungere un'altra goccia di reagente 2 e miscelare finché il campione non diventi trasparente).
5. Inserire la striscia per analisi nella provetta con le frecce rivolte verso il basso.
6. Dopo cinque (5) minuti, estrarre la striscia per analisi dalla provetta e leggere il risultato dell'analisi.

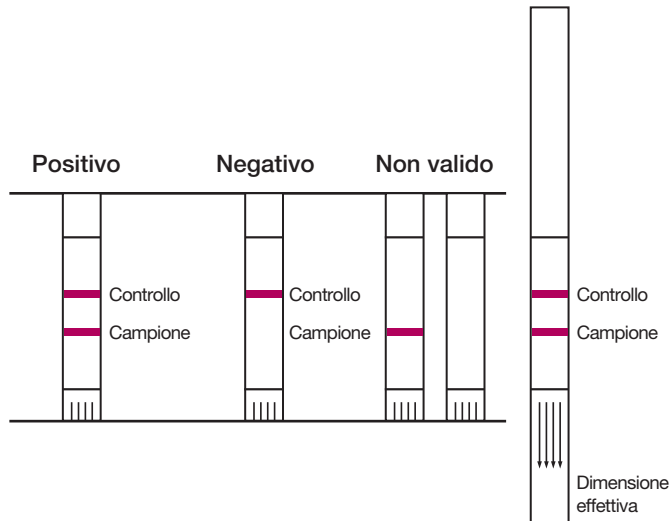
Interpretazione dei risultati

Il grafico per l'interpretazione dei risultati rappresenta un ausilio nella lettura della striscia per analisi.

La linea di controllo ROSA/VIOLA compare sulla metà superiore della striscia per analisi in presenza di un **campione negativo**. Non compaiono altre linee.

La linea di controllo ROSA/VIOLA compare INSIEME a una seconda linea campione ROSA/VIOLA al di sotto di essa, sulla metà inferiore della striscia per analisi in presenza di un **campione positivo**. Qualsiasi linea campione, anche se scarsamente visibile, indica un risultato positivo.

Il test **non è valido** se la linea di controllo ROSA/VIOLA non compare, indipendentemente dalla presenza della linea campione. Ripetere i test non validi usando una nuova striscia per analisi. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Alere™.



Refertazione dei risultati

Risultato	Refertazione consigliata
Positivo	Positivo per PBP2a
Negativo	Negativo per PBP2a
Non valido	Indeterminato; non refertare. Ripetere il test sul campione e, se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Alere™.

Prestazioni cliniche

Le prestazioni cliniche dell'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test sono state determinate mediante uno studio clinico multicentrico condotto nel 2013 presso tre (3) laboratori distanti geograficamente.

Sono stati valutati in totale 454 campioni di *S. aureus* con l'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, rispetto ai risultati della disco-diffusione di cefoxitina da 30 µg e interpretati secondo gli standard CLSI. Le prestazioni dell'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test rispetto alla disco-diffusione di cefoxitina, con gli intervalli di confidenza del 95% e la stratificazione per tipo di piastra sono riportati in Tabella 1.

Tutti i controlli positivi e negativi giornalieri hanno generato i risultati previsti.

Tabella 1: Prestazioni dell'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test rispetto alla disco-diffusione di cefoxitina (30 µg) negli isolati di *S. aureus*: Risultati per tipo di piastra

Tipo di piastra	Sensibilità	I.C. 95%	Specificità	I.C. 95%
Piastra principale¹	100,0% (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5% (134/136)	(94,8, 99,6)
Agar soia triptico con il 5% di sangue di montone	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Agar Columbia con il 5% di sangue di montone	98,6% (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Mueller Hinton con induzione di cefoxitina da 30 µg	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6% (238/239)	(97,7, 99,9)

1: L'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test è stato eseguito dalle piastre principali presso 2 dei 3 siti clinici. Le piastre primarie erano costituite da Agar soia triptico o Agar Columbia, a eccezione di due campioni su piastra non nota.

Prestazioni analitiche











Reattività e specificità analitiche

Sono stati analizzati 162 ceppi di *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (MRSA) e 112 ceppi di *Staphylococcus aureus* sensibili alla meticillina (MSSA) con l'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test fornendo i risultati previsti. Tali ceppi batterici sono stati ottenuti dal Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA), American Type Culture Collection (ATCC) e una raccolta di ceppi dal Department of Infectious Disease Epidemiology dell'Imperial College di Londra, Inghilterra. Notare che gli isolati analizzati non sono stati coltivati su piastre di Agar Columbia. Tutti i controlli positivi e negativi giornalieri hanno generato i risultati previsti.

Studio di riproducibilità

Uno studio dell'Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test è stato condotto presso 3 siti separati, utilizzando pannelli di campioni con codifica in cieco, contenenti campioni positivi e negativi in duplicato per ciascun pannello. I partecipanti hanno testato ciascuno un pannello in 5 giorni diversi. La corrispondenza dei risultati del test rispetto a quelli previsti è stata del 100,0% (600/600). Non sono state riscontrate differenze significative all'interno della stessa analisi (repliche testate da un solo operatore), tra le analisi (5 giorni diversi), tra i siti (3 siti) o tra gli operatori (6 operatori). Notare che gli isolati analizzati non sono stati coltivati su piastre di agar Columbia. Tutti i controlli positivi e negativi giornalieri hanno generato i risultati previsti.

Simboli

 Consultare le istruzioni per l'uso	 Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea	 Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
 Numero di catalogo	 Marchio CE	 Produttore
 Limiti di temperatura	 Pittogramma di pericolo. Vedere le precauzioni.	 Il kit contiene materiali sufficienti per 25 test
 Non riutilizzare	 Codice di lotto	 Utilizzare entro

Recapiti e informazioni per ordinare

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

USA: +1 877 441 7440

Fuori dagli USA: +1 321 441 7200

Assistenza tecnica

Assistenza telefonica

È possibile ricevere maggiori informazioni dal proprio distributore oppure contattando l'assistenza tecnica Alere™ ai seguenti recapiti:

Stati Uniti

+1-877-866-9341 TS.SCR@alere.com

Africa, Russia, CIS

+972 8 9429 683 ARCISproductsupport@alere.com

Asia Pacifico

+61 7 3363 7711 APproductsupport@alere.com

Canada


+1 800 818 8335 CANproductsupport@alere.com

Europa e Medio Oriente

+44 161 483 9032 EMEproductsupport@alere.com

America Latina

+57 2 6618797 LAproductsupport@alere.com

 893-000

Bibliografia

- Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Beoogd gebruik

De Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test is een hoogwaardige *in vitro* immunochromatografische assay voor snelle detectie van penicillinebindend proteïne 2a (PBP2a) in isolaten die zijn geïdentificeerd als *Staphylococcus aureus*; de assay dient als hulpmiddel voor de detectie van meticillineresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Samenvatting en toelichting van de test

Tijdige detectie van infecties van meticillineresistente *Staphylococcus aureus* leidt tot lagere kosten voor de gezondheidszorg, is essentieel voor het terugdringen van de morbiditeit en mortaliteit van patiënten, vermindert het empirisch gebruik van vancomycine en maakt kosteneffectieve beslissingen mogelijk voor optimaal patiëntbeheer.¹

Conventionele methoden voor het testen van antimicrobiële vatbaarheid kunnen meer dan 24 uur in beslag nemen, en de identificatie van het *mecA*-gen is duur en tijdrovend. De detectie van penicillinebindend proteïne 2a (PBP2a) geniet de voorkeur boven de detectie van *mecA* bij het identificeren van stammen die niet alleen het *mecA*-gen herbergen, maar ook de proteïne produceren die de resistentie voor meticilline veroorzaakt.

De Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test biedt een snelle, eenvoudige methode voor het detecteren van de PBP2a-proteïne die voorkomt in isolaten van meticillineresistente *Staphylococcus aureus*.


Principes van de procedure

De Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test is een snelle assay voor immunochromatografisch membraan. De assay maakt gebruik van uiterst gevoelig recombinante monoklonale antistoffragmenten (rFabs) voor de rechtstreekse detectie van de PBP2a-proteïne in bacteriële isolaten. De rFab en een controle-eiwit worden op een nitrocellulosemembraan geïmmobiliseerd als twee afzonderlijke lijnen en gecombineerd met een monsterpad, een roze/paarse conjugeerpad en een absorptiepad om een teststrook te vormen.

Isolaten worden rechtstreeks vanaf de petrischaal met de cultuur bemonsterd en geëluëerd in een monsterbuisje met Reagens 1. Vervolgens wordt Reagens 2 toegevoegd en wordt de teststrook geplaatst in het monsterbuisje. De resultaten kunnen na 5 minuten visueel worden afgelezen.

Reagentia en materialen

Materialen die worden geleverd in de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kit

- **Teststroken:** Een teststrook in een plastic omhulsel met pijlen die de testrichting aangeven.
- **Reagens 1:** Een heldere, blauwe alkalineoplossing. 
- **Reagens 2:** Een heldere, licht zure oplossing met natriumazidebuffer en surfactanten.
- **Monsterbuisjes**
- **Testrekken**

Benodigde, niet meegeleverde materialen

Klok, timer of stopwatch, entogen, vortexmixer en externe positieve en negatieve controlestammen.

Externe positieve en negatieve controles


Hieronder vindt u de aanbevolen controles. Laboratoria kunnen als alternatief ook resistente en gevoelige *S. aureus*-stammen gebruiken die routinematig worden gebruikt, wat controleresultaten biedt als verwacht.

Positieve controle: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negatieve controle: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Voorzorgsmaatregelen

1. Uitsluitend voor *in-vitro* diagnostisch gebruik.
2. Indien gekoeld dient u alle onderdelen van de kit op kamertemperatuur (15-30°C) te laten komen voordat u deze gebruikt.
3. Verbreek de verzegeling van het foliezakje met de teststroken pas vlak voor gebruik.
4. Vermijd dat het reagens of de teststrook in contact komt met de huid of ogen.
5. Gebruik de kit niet na de vervaldatum.
6. Gebruik onderdelen van kits met verschillende partijnummers niet door elkaar en verwissel deze niet.
7. Zoals bij alle bacteriële monsters kunnen controles en teststroken pathogene organismen bevatten; hanteer de nodige voorzorgsmaatregelen en voer de materialen veilig af in containers voor gevaarlijk biologisch afval.
8. De Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test dient uitsluitend te worden uitgevoerd op isolaten van *Staphylococcus aureus*.

9. Reagens 1 bevat natriumhydroxide.
Gevaar: veroorzaakt ernstige brandwonden op de huid en oogletsel. 
10. Veiligheidsinformatiebladen voor dit product zijn verkrijgbaar op aanvraag.
11. Volg de landelijke en regionale verordeningen voor afvalverwerking.
12. Reagens 2 bevat natriumazide.

Opslag en stabiliteit

Bewaar de onderdelen van de kit bij kamertemperatuur of in de koeling (2-30°C).

De Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kit en reagentia zijn stabiel tot de op de buitenverpakking aangegeven vervaldatum.

Kwaliteitscontrole

Dagelijkse kwaliteitscontrole:

De Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test omvat positieve en negatieve procedurecontroles. Met het oog op de kwaliteitscontrole acht Alere het raadzaam om deze controles te documenteren voor elke test die wordt uitgevoerd.

Procedurecontroles:

- A. De roze/paarse lijn op de plaats van de 'controlelijn' kan worden beschouwd als een interne procedurecontrole. Als er capillaire stroming is opgetreden, verschijnt deze lijn altijd.
- B. Ten opzichte van de kleur van de controlelijn moet de achtergrondkleur van de teststrook binnen 5 minuten wit zijn.

Externe positieve en negatieve controles:

Goede laboratoriumpraktijken bevelen het gebruik van positieve en negatieve controles aan om het volgende te waarborgen:

- de testreagentia werken en
- de test is correct uitgevoerd.

Voor elke nieuwe partij dienen externe positieve en negatieve controles te worden getest. Deze vormen een controle voor de gehele assay. De resultaten van deze controlemonsters dienen te worden vastgelegd. Raadpleeg het gedeelte Voorbereidingsprocedure voor monsters voor verdere instructies.

Hieronder vindt u de aanbevolen controles. Laboratoria kunnen als alternatief ook resistente en gevoelige *S. aureus*-stammen gebruiken die routinematig worden gebruikt, wat controleresultaten biedt als verwacht.

Aanbevolen controlestammen:

Positieve controle: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Negatieve controle: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Andere controles kunnen worden getest om te voldoen aan

- lokale, provinciale, landelijke of Europese voorschriften,
- accrediterende organisaties en/of
- standaardprocedures voor kwaliteitscontrole in uw laboratorium.

Als er geen correcte controleresultaten worden verkregen, dienen de resultaten niet te worden gerapporteerd. Neem contact op met de technische ondersteuning (raadpleeg het gedeelte Bestellen en contactgegevens).

Monsters verzamelen en hanteren

Monsters zijn bacteriële isolaten van *Staphylococcus aureus*. Het wordt aanbevolen verse culturen (<24 uur) te gebruiken. De prestaties van de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test zijn niet vastgesteld voor gebruik met gekoelde monsters.

Cultuurmedia

S. aureus-kolonies kunnen worden getest aan de hand van een van de volgende cultuurmedia:

- Tryptone Soy Agar (Tryptic Soy Agar) met 5% schapebloed (TSA-bloed)
- Columbia Agar met 5% schapebloed
- Mueller Hinton Agar

Controleprocedures

1. Maak op een petrischaal een subcultuur van de controlestam. Incubeer de petrischaal 's nachts gedurende 18-24 uur op 33-35°C.
2. Volg de onderstaande assayprocedure.

Assayprocedure

Indien gekoeld dient u alle reagentia en teststroken op kamertemperatuur (15-30°C) te laten komen voordat u gaat testen.

De test kan worden uitgevoerd met goed geïsoleerde kolonies op de primaire petrischaal indien er voldoende groei is of met een subcultuur van het isolaat.

1. Houd de druppelfles verticaal en voeg twee druppels Reagens 1 toe aan een monsterbuisje.
2. Neem met een bacteriologisch entooog voor 1 µl één volle schep van het monster (een zwaar inoculum) van goed geïsoleerde kolonies op de petrischaal. Plaats de inhoud in het buisje en meng het grondig.
3. Houd de druppelfles verticaal en voeg twee druppels Reagens 2 toe aan het buisje.
4. Meng kort met een vortexmixer. De blauwe oplossing dient een heldere kleur te krijgen. (Als de kleur niet verandert, voegt u nog één druppel Reagens 2 toe en mengt u het tot het monster helder wordt.)
5. Steek de teststrook met de pijlen naar beneden in het reageerbuisje.
6. Haal de teststrook na vijf (5) minuten uit het buisje en lees het assayresultaat af.

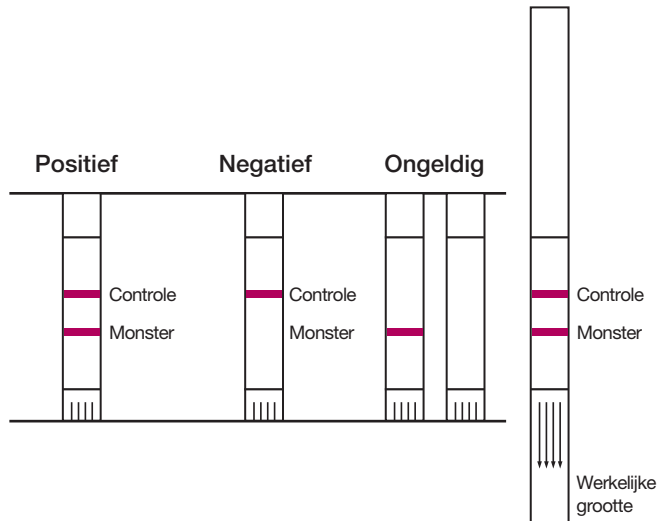
Interpretatie van resultaten

Voor hulp bij het aflezen van de teststrook raadpleegt u de Grafiek voor interpretatie van resultaten.

Bij een **negatief monster** verschijnt er in de bovenste helft van de teststrook een ROZE/PAARSE controlelijn. Er verschijnt geen andere lijn.

Bij een **positief monster** verschijnt er behalve de ROZE/PAARSE controlelijn daaronder OOK een tweede ROZE/PAARSE monsterlijn in de onderste helft van de strook. Elke monsterlijn, hoe zwak ook, geeft een positief resultaat weer.

Een test is **ongeldig** als er geen ROZE/PAARSE controlelijn verschijnt, ongeacht of er een monsterlijn verschijnt of niet. Herhaal ongeldige tests met een nieuwe teststrook. Bel de technische ondersteuning van Alere™ als het probleem zich blijft voordoen.



Resultaten melden

Resultaat	Voorgestelde rapportage
Positief	Positief voor PBP2a
Negatief	Negatief voor PBP2a
Ongeldig	Onbepaald; niet rapporteren. Test het monster opnieuw en neem contact op met de technische ondersteuning van Alere™ als het probleem zich blijft voordoen.

Klinische prestaties

De klinische prestaties van de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test zijn vastgesteld in een klinisch multicenteronderzoek dat is uitgevoerd in 2013 bij drie (3) geografisch verspreide laboratoria.

In totaal werden 454 *S. aureus*-monsters geëvalueerd in de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test. De resultaten werden vergeleken met de resultaten van schijfdiffusie met 30 µg cefoxitine en geïnterpreteerd volgens de CLSI-normen. In tabel 1 staat een vergelijking van de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test met schijfdiffusie met cefoxitine, inclusief 95% betrouwbaarheidsintervallen en geordend op type petrischaal.

Alle positieve en negatieve dagelijkse controles hebben de verwachte resultaten opgeleverd.

Tabel 1: Prestaties van de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test t.o.v. schijfdiffusie met cefoxitine (30 µg) in *S. aureus*-isolaten: Resultaten per type petrischaal

Type petrischaal	Sensitiviteit	95% betrouwbaarheidsinterval	Specificiteit	95% betrouwbaarheidsinterval
Primaire petrischaal¹	100,0% (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5% (134/136)	(94,8, 99,6)
Tryptic Soy Agar met 5% schapenbloed	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Columbia Agar met 5% schapenbloed	98,6% (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Müller-Hinton met 30 µg cefoxitine-inductie	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6% (238/239)	(97,7, 99,9)

1: De Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test is op 2 van de 3 klinische locaties uitgevoerd vanaf primaire petrischalen. De primaire petrischalen waren Tryptic Soy Agar of Columbia Agar, met uitzondering van twee monsters van een onbekend type petrischaal.

Analytische prestaties













Analytische reactiviteit en sensitiviteit

162 stammen meticillineresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) en 112 stammen meticillinegevoelige *Staphylococcus aureus* (MSSA) zijn getest met de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test en hebben de verwachte resultaten opgeleverd. Deze bacteriële stammen zijn verkregen van het Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA), de American Type Culture Collection (ATCC) en een verzameling stammen van het Department of Infectious Disease Epidemiology van de Imperial College in Londen, Engeland. De geteste isolaten zijn niet van een cultuur voorzien met Columbia Agar-petrischalen. Alle positieve en negatieve dagelijkse controles hebben de verwachte resultaten opgeleverd.

Reproduceerbaarheidsonderzoek

Er is een onderzoek met de Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test uitgevoerd op 3 afzonderlijke locaties. Hierbij werden panels met geblindeerde, gecodeerde monsters gebruikt met dubbele negatieve en positieve monsters in elk panel. De deelnemers testten elk panel op 5 verschillende dagen. Er was 100,0% (600/600) overeenkomst met de verwachte testresultaten. Er waren geen significante verschillen binnen tests (kopieën getest door één gebruiker), tussen tests (5 verschillende dagen), tussen centra (3 locaties) of tussen gebruikers (6 gebruikers). De geteste isolaten zijn niet van een cultuur voorzien met Columbia Agar-petrischalen. Alle positieve en negatieve dagelijkse controles hebben de verwachte resultaten opgeleverd.

Symbolen

 Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	 Gemachtigde in de Europese Gemeenschap	 Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek
 Catalogusnummer	 CE-markering	 Fabrikant
 Temperatuurlimiet	 Gevapenpictogram. Zie voorzorgsmaatregelen.	 De kit bevat voldoende materiaal voor 25 tests
 Niet opnieuw gebruiken	 Batchcode	 Houdbaar tot

Bestellen en contactgegevens

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

VS: 1 877 441 7440

Buiten de VS: +1 321 441 7200

Technische ondersteuning

Advieslijn

Neem voor meer informatie contact op met uw distributeur, of met de technische ondersteuning van Alere™ via:

VS

1-877-866-9341 TS.SCR@alere.com

Afrika, Rusland, GOS

+972 8 9429 683 ARCISproductsupport@alere.com

Azië en Pacifisch gebied

+61 7 3363 7711 APproductsupport@alere.com

Canada


+1 800 818 8335 CANproductsupport@alere.com

Europa en Midden-Oosten

+44 161 483 9032 EMEproductsupport@alere.com

Latijns-Amerika

+57 2 6618797 LAsproductsupport@alere.com

 893-000

Literatuur

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Tiltenkt bruk

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test er en kvalitativ, *in vitro* immunkromatografisk analyse for rask deteksjon av penicillinbindende protein 2a (PBP2a) i isolater definert som *Staphylococcus aureus* til hjelp i å identifisere meticillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Oppsummering og forklaring av testen

Det er kjent at tidlig oppdaging av meticillin-resistente stafylokokkinfeksjoner reduserer kostnader til helsevesenet, noe som er viktig for å redusere pasient-sykkelighet og -dødelighet, redusere empirisk bruk av vancomycin og muliggjøre kostnadseffektive avgjørelser for optimal pasientadministrasjon.¹

Konvensjonelle metoder for testing av antimikrobisk mottakelighet kan ta over 24 timer, og *mecA*-genidentifisering er dyrt og tidkrevende å utføre. Detektering av penicillin-bindende protein 2a (PBP2a) har imidlertid den fordelene fremfor *mecA* i å identifisere strenger, at det ikke bare huser *mecA*-genet, men også produserer proteinet som overfører resistens mot meticillin.

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test gir en enkel og rask metode for å detektere PBP2a-proteinene som er funnet i isolater av meticillin-resistent *Staphylococcus aureus*.


Prinsipper for prosedyren

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test er en rask immunkromatografisk membrananalyse som bruker høysensitive rekombinante monoklonale antistofffragmenter (rFabs) for å detektere PBP2a-proteinene direkte fra bakterieisolater. rFab- og et kontrollprotein immobiliseres på et nitrocellulosemembran som to atskilte linjer og kombineres med et prøvefelt, et rosa/lilla konjugatfelt, samt et absorpsjonsfelt slik at det danner en teststrimmel.

Isolatene prøvetas direkte fra kulturplaten og vaskes ut til et analyserør som inneholder Reagens 1. Reagens 2 tilsettes så, og teststrimmelen plasseres i analyserøret. Resultatene leses av visuelt etter 5 minutter.

Reagenser og materialer

Materialer som følger med i Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

- **Teststrimler:** En teststrimmel dekket med et plasttrekk med retningspiler som viser testposisjon.
- **Reagens 1:** En klar, blå alkalisk løsning. 
- **Reagens 2:** En klar, lett sur løsning som inneholder natriumazidbuffer og surfaktanter.
- **Analyserør**
- **Teststativer**

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med:

Klokke, tidtaker eller stoppeklokke, bakteriologiske sløyfer, vorteksblender og eksterne positive og negative kontrollstrenger.


Eksterne positive og negative kontroller

De anbefalte kontrollene er listet opp nedenfor. Alternativt kan laboratorier bruke resistente og sensitive *S. aureus*-strenger som brukes rutinemessig, forutsatt at kontrollresultatene er som forventet.

Positiv kontroll: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negativ kontroll: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Forholdsregler

1. Bare til bruk ved *in vitro*-diagnostikk.
2. Hvis settet er avkjølt, skal det utjevnes til romtemperatur (15–30 °C) før bruk.
3. La teststrimlene ligge forseglet i folieposen frem til rett før bruk.
4. Unngå at hud og øyne kommer i kontakt med reagenser og teststimmelen.
5. Ikke bruk settet etter utløpsdatoen.
6. Ikke bland eller bytt ut komponenter fra sett som kommer fra forskjellige serier.
7. Som med alle bakterieprøver kan kontroller og teststrimler inneholde patogene organismer. Håndter med egnede forsiktighetsregler og kasser materialet trygt i beholdere for biologisk farlig avfall.
8. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test skal utføres bare på isolater av *Staphylococcus aureus*.
9. Reagens 1 inneholder natriumhydroksyd.
Fare, forårsaker alvorlige hudforbrenninger og øyeskader. 
10. Sikkerhetsdatablad for dette produktet er tilgjengelig på forespørsel.
11. Følg dine nasjonale, regionale og lokale forordninger i samsvar med renovasjonsforskrifter.
12. Reagens 2 inneholder natriumazid.

Oppbevaring og sterilitet

Oppbevar settets komponenter i romtemperatur under kjøling (2–30 °C).

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test og reagenser er stabile frem til utløpsdatoen som står på den ytre emballasjen.

Kvalitetskontroll

Daglig kvalitetskontroll:

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test har innebygde positive og negative prosedyrekontroller. Alere foreslår at du registrerer disse kontrollene for hver testkjøring, for kvalitetskontroll.

Prosedyekontroller:

- A. Utseendet til en rosa/lilla linje på "kontrollinjens" plassering kan anses som en intern positiv prosedyrekontroll. Hvis kapillærflyt har oppstått, vil denne linjen alltid vises.
- B. Til sammenligning med fargen på kontrollinjen skal bakgrunnsfargen på teststrimmelen være hvit innen 5 minutter.

Eksterne positive og negative kontroller:

God laboratoriepraksis foreslår bruk av positive og negative kontroller for å sikre at:

- testreagensene fungerer, og at
- testen utføres på riktig måte.

Eksterne positive og negative kontroller skal testes for hver ny serie. Disse overvåker hele analysen. Resultatene av disse kontrollprøvene skal registreres. Se avsnittet Prosedyre for klargjøring av prøve for ytterligere instruksjoner.

De anbefalte kontrollene er listet opp nedenfor. Alternativt kan laboratorier bruke resistente og sensitive *S. aureus*-strenger som brukes rutinemessig, forutsatt at kontrollresultatene er som forventet.

Anbefalte kontrollstrenger:

Positiv kontroll: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negativ kontroll: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Andre kontroller kan testes for å samsvare med

- lokale, regionale og/eller statlige forskrifter,
- akkrediteringsgrupper og/eller
- laboratoriets standard kvalitetskontrollprosedyrer.

Hvis det ikke oppnås riktige kontrollresultater, skal resultatene ikke rapporteres. Kontakt teknisk støtte (se avsnittet Bestillings- og kontakinformasjon).

Prøvetaking og behandling

Prøvene er bakterieisolater av *Staphylococcus aureus*. Det anbefales å bruke ferske kulturer (<24 timer). Utførelsen av Alera™ PBP2a SA Culture Colony Test er ikke fastsatt for bruk med avkjølte prøver.

Kulturmedia

S. aureus-kolonier kan testes fra en hvilken som helst av følgende kulturmedia:

- Trypton-soya-agar (Tryptisk soya-agar) med 5 % saueblod (TSA-blod)
- Columbia-agar med 5 % saueblod
- Mueller Hinton-agar

Kontrollprosedyrer

1. Subkultiver kontrollstrengen på en kulturplate. Inkuber platen over natten ved 33–35 °C i 18–24 timer.
2. Følg analyseprosedyren nedenfor.

Analyseprosedyre

Hvis reagenser og teststrimler er avkjølt, skal de utjevnes til romtemperatur (15–30 °C) før testing.

Testen kan utføres på godt isolerte kolonier på primærplaten hvis det er tilstrekkelig vekst, eller fra en underkultur av isolatet.

1. Hold dråpetelleren loddrett og tilsett to dråper med Reagens 1 i et prøverør.
2. Ta én fylt 1 µL bakteriologisk sløyfe (et tungt inokulum) med prøve fra godt isolerte kolonier på kulturplaten, og plasser den i røret og bland godt.
3. Hold dråpetelleren loddrett og tilsett to dråper med Reagens 2 i røret.
4. Bland kort i vorteksblender. Den blå løsningen må bli klar (hvis fargen ikke endres, tilsettes én dråpe til med Reagens 2, og det blandes til prøven bli klar).
5. Sett inn teststrimmelen i analyserøret med pilene pekende nedover.
6. Etter fem (5) minutter trekkes teststrimmelen ut av røret og analyseresultatet avleses.

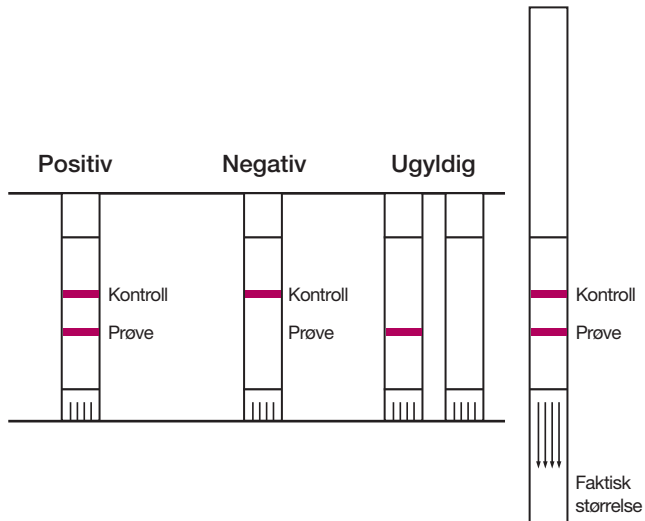
Tolkning av resultater

Se den grafiske fremstillingen av resultattolkning for hjelp til å lese av strimmelen.

For en **negativ prøve** vises en ROSA/LILLA kontrolllinje i den øverste halvparten av teststrimmelen. Det vises ingen annen linje.

For en **positiv prøve** vises den ROSA/LILLA kontrollinjen, OG en andre ROSA/LILLA prøvelinje vises nedenfor den i den nederste halvparten av teststrimmelen. Alle prøvelinjer, selv om de er svake, er positive.

En test er **ugyldig** hvis den ROSA/LILLA kontrollinjen ikke vises, uansett om en prøvelinje vises eller ikke. Gjenta ugyldige tester med en ny teststrimmel. Kontakt Alere™ teknisk støtte hvis problemet vedvarer.



Rapportering av resultater

Resultat	Foerslått rapport
Positiv	Positiv for PBP2a
Negativ	Negativ for PBP2a
Ugyldig	Ikke fastslått, skal ikke rapporteres. Test en prøve på nytt og kontakt Alere™ teknisk service-støtte hvis problemet vedvarer.

Klinisk ytelse

Den kliniske ytelsen til Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ble fastslått i en flersenter klinisk studie utført i 2013 ved tre (3) geografisk forskjellige laboratorier.

Totalt 454 *S. aureus*-prøver ble evaluert i Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, sammenlignet med resultatene av 30 µg cefoksindiskdiffusjon og tolket i henhold til CLSI-standardene. Ytelsen til Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test versus cefoksindiskdiffusjon inkludert 95 % konfidensintervaller og stratifisert etter plattetype finnes i tabell 1.

Alle positive og negative daglige kontrollere genererte de forventede resultatene.

Tabell 1: Ytelsen til Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test vs. cefoksitin (30 µg) diskdiffusjon i *S. aureus*-isolater: Resultater etter plattetype

Plattetype	Sensitivitet	95 % C.I.	Spesifisitet	95 % C.I.
Primærplate¹	100,0 % (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5 % (134/136)	(94,8, 99,6)
Tryptisk soya-agar med 5 % saueblod	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Columbia-agar med 5 % saueblod	98,6 % (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Mueller Hinton med 30 µg cefoksitininduksjon	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6 % (238/239)	(97,7, 99,9)

1: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ble utført fra primærplater ved 2 av 3 kliniske steder. Primærplater var enten tryptisk soya-agar eller Columbia-agar med unntak av to prøver av ukjent plattetype.

Analytisk ytelse













Analytisk reaktivitet og spesifisitet

162 strenger med meticillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) og 112 strenger med meticillin-sensitiv *Staphylococcus aureus* (MSSA) ble testet med Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test med forventede resultater. Disse bakteriestrengene ble hentet fra Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA), American Type Culture Collection (ATCC) og en samling av strenger fra Department of Infectious Disease Epidemiology ved Imperial College i London, England. Merk at isolater som ble testet, ikke ble dyrket ved bruk av Columbia-agarplater. Alle positive og negative daglige kontrollere genererte de forventede resultatene.

Repetierbarhetsstudie

En studie av Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ble utført ved 3 separate steder, ved bruk av paneler med blindkodede prøver som inneholdt negative og positive prøver i duplikat for hvert panel. Hver av deltakerne testet ett panel på 5 ulike dager. Det var 100,0 % (600/600) sammenfall med forventede testresultater. Det var ingen signifikante forskjeller innen kjøring (like prøver testet av én operatør), mellom serien (5 forskjellige dager), mellom steder (3 steder) eller mellom operatører (6 operatører). Merk at isolater som ble testet, ikke ble dyrket ved bruk av Columbia-agarplater. Alle positive og negative daglige kontrollere genererte de forventede resultatene.

Symboler

		
Se bruksanvisningen	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap	Medisinsk utstyr til <i>in vitro</i> -diagnostisk bruk
		
Katalognummer	CE-merke	Produsent
		
Temperaturbegrensning	Piktogram for fare. Se forholdsregler.	Settet inneholder tilstrekkelig materiale for 25 tester
		
Må ikke gjenbrukes	Lotnummer	Brukes innen

Bestillings- og kontaktinformasjon

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

USA: 1 877 441 7440

OUS: +1 321 441 7200

Teknisk støtte

Kundestøtte

Mer informasjon kan fås hos leverandøren eller ved å kontakte Alere™ teknisk støtte:

USA:

1-877-866-9341

TS.SCR@alere.com

Afrika, Russland og tidligere USSR-republikker og -områder

+972 8 9429 683

ARCISproductsupport@alere.com

Asia og Stillehavsområdet

+61 7 3363 7711

APproductsupport@alere.com

Canada

+1 800 818 8335

CANproductsupport@alere.com

Europa og Midtøsten


+44 161 483 9032

EMEproductsupport@alere.com

Latin-Amerika

+57 2 6618797

LAproductsupport@alere.com

 893-000

Referanser

- Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



PBP2a SA Culture Colony Test

Indicações

O Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test é um ensaio imunocromatográfico *in vitro* qualitativo para a deteção rápida da proteína de ligação à penicilina 2a (PBP2a) em isolados identificados como *Staphylococcus aureus* como um auxiliar na identificação de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA).

Resumo e explicação do teste

Sabe-se que a deteção precoce de infeções estafilocócicas resistentes à meticilina reduz os custos com os cuidados de saúde, que são críticos para o esforço de reduzir a morbilidade e mortalidade dos pacientes, de reduzir a utilização empírica de vancomicina e permite a tomada de decisões rentáveis para o tratamento ideal dos pacientes.¹

Os métodos convencionais de teste de suscetibilidade antimicrobiana podem demorar mais de 24 horas e a identificação do gene *mecA* é dispendiosa e morosa. Contudo, a deteção da proteína de ligação à penicilina 2a (PBP2a) tem a vantagem em relação ao método *mecA* de identificar estirpes que não só são portadoras do gene *mecA*, mas que também produzem a proteína que confere a resistência à meticilina.

O Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test proporciona um método simples e rápido de detetar a proteína PBP2a encontrada em isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina.


Princípios do procedimento

O Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test é um ensaio de membrana imunocromatográfico rápido que utiliza fragmentos de anticorpos monoclonais recombinantes altamente sensíveis (rFabs) para detetar a proteína PBP2a diretamente a partir de isolados bacterianos. O rFab e a proteína de controlo são imobilizados numa membrana de nitrocelulose sob a forma de duas linhas distintas e combinadas com um bloco de amostra, um bloco de conjugado cor de rosa/roxo e um bloco de absorção para formar uma tira de teste.

É efetuada a amostragem dos isolados diretamente a partir da placa de cultura e a eluição num tubo de ensaio que contém o Reagente 1. Em seguida, é adicionado o Reagente 2 e a tira de teste é colocada no tubo de ensaio. Os resultados são lidos visualmente depois de decorridos 5 minutos.

Reagentes e materiais

Materiais fornecidos no Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kit

- **Tiras de teste:** uma tira de teste revestida com uma cobertura plástica com setas direcionais para indicar a posição de teste.
- **Reagente 1:** uma solução alcalina azul, transparente. 
- **Reagente 2:** uma solução transparente ligeiramente ácida que contém tampão de azida de sódio e surfactantes.
- **Tubos de ensaio**
- **Suportes de teste**

Materiais necessários, mas não fornecidos:

Relógio, cronómetro, ansas bacteriológicas, misturador vórtex e estirpes de controlo externo positivo e negativo.


Controlos externos positivos e negativos

Os controlos recomendados encontram-se listados abaixo. Como alternativa, os laboratórios podem utilizar estirpes resistentes e sensíveis a *S. aureus* rotineiramente utilizadas, fornecendo resultados de controlo conforme previsto.

Controlo positivo: *Staphylococcus aureus*, n.º ATCC 43300

Controlo negativo: *Staphylococcus aureus*, n.º ATCC 25923

Precauções

1. Apenas para utilização em diagnósticos *in vitro*.
2. Se tiverem sido refrigerados, permita que todos os componentes do kit atinjam a temperatura ambiente (15-30 °C) antes da respetiva utilização.
3. Deixe a tira de teste selada na respetiva bolsa de folha de alumínio até ao momento da utilização.
4. Evite o contacto da pele e dos olhos com os reagentes e com a tira de teste.
5. Não utilize o kit após o prazo de validade.
6. Não troque nem misture componentes de kits de lotes diferentes.
7. Tal como sucede com todas as amostras bacterianas, os controlos e tiras de teste podem conter microrganismos patogénicos; manuseie com as precauções apropriadas e elimine os materiais de forma segura em recipientes para resíduos com risco biológico.
8. O Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test deverá ser efetuado apenas em isolados de *Staphylococcus aureus*.
9. O Reagente 1 contém hidróxido de sódio.
Perigo: provoca queimaduras cutâneas e lesões oculares graves. 

10. Fichas de dados de segurança disponíveis para este produto a pedido.
11. Seguir os regulamentos nacionais, regionais e locais em conformidade com os regulamentos relativos a eliminação de resíduos.
12. O Reagente 2 contém azida de sódio.

Conservação e estabilidade

ConsERVE os componentes do kit à temperatura ambiente ou refrigerados (2-30 °C).

O Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kit e os reagentes mantêm-se estáveis até às datas de validade indicadas na sua embalagem exterior.

Controlo de qualidade

Controlo de qualidade diário:

O Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test possui controlos de procedimento positivos e negativos integrados. Para o controlo de qualidade, a Alere sugere que registre estes controlos para cada execução de teste.

Controlos de procedimento:

- A. O aparecimento de uma linha cor de rosa/roxa na posição da “linha de controlo” pode ser considerado como um controlo de procedimento positivo interno. Se ocorrer um fluxo capilar, esta linha aparecerá sempre.
- B. Em comparação com a cor da linha de controlo, a cor de fundo na tira de teste deverá ser branca no espaço de 5 minutos.

Controlos externos positivos e negativos:

As boas práticas laboratoriais sugerem a utilização de controlos positivos e negativos para assegurar que:

- os reagentes de teste estão a funcionar e
- o teste é realizado de forma correta.

Para cada novo lote, devem ser testados controlos externos positivos e negativos. Estes irão monitorizar todo o ensaio. Os resultados destas amostras de controlo deverão ser registados. Consulte a secção Procedimento de preparação de amostras para obter instruções adicionais.

Os controlos recomendados encontram-se listados abaixo. Como alternativa, os laboratórios podem utilizar estirpes resistentes e sensíveis a *S. aureus* rotineiramente utilizadas, fornecendo resultados de controlo conforme previsto.

Estirpes de controlo recomendadas:

Controlo positivo: *Staphylococcus aureus*, n.º ATCC 43300

Controlo negativo: *Staphylococcus aureus*, n.º ATCC 25923

Outros controlos podem ser testados de forma a respeitarem:

- as regulamentações locais, estatais e/ou federais,
- os grupos de acreditação e/ou
- os procedimentos padrão de Controlo de Qualidade do seu laboratório.

Se não forem obtidos os resultados de controlo corretos, não comunique os resultados. Contacte o Apoio Técnico (consulte a secção de Informações de encomenda e contacto).

Colheita e manuseamento das amostras

As amostras são isolados bacterianos de *Staphylococcus aureus*. É recomendada a utilização de culturas recém-preparadas (<24 horas). O desempenho do Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ainda não foi estabelecido para utilização com amostras refrigeradas.

Meio de cultura

As colónias de *S. aureus* podem ser testadas a partir de qualquer um dos seguintes meios de cultura:

- Agar de soja triptona (Agar de soja triptica) com sangue de ovino a 5% (sangue para TSA)
- Agar Columbia com sangue de ovino a 5%
- Agar Mueller Hinton

Procedimentos de controlo

1. Efetue a subcultura da estirpe de controlo numa placa de cultura. Incube a placa de um dia para o outro a uma temperatura de 33-35 °C durante 18-24 horas.
2. Siga o Procedimento do ensaio abaixo.

Procedimento do ensaio

Se tiverem sido refrigerados, permita que os reagentes e as tiras de teste atinjam a temperatura ambiente (15-30 °C) antes de proceder ao teste.

O teste pode ser efetuado a partir de colónias bem isoladas na placa primária se se verificar um crescimento suficiente ou a partir de uma subcultura do isolado.

1. Segurando no conta-gotas na posição vertical, adicione duas gotas de Reagente 1 ao tubo de ensaio.
2. Retire uma ansa bacteriológica com 1 µl (um inóculo pesado) de amostra de três colónias bem isoladas na placa de cultura, coloque-a no tubo e misture bem.
3. Segurando no conta-gotas na posição vertical, adicione duas gotas de Reagente 2 ao tubo.
4. Misture no vórtex por breves instantes. A solução azul deve ficar transparente (se a cor não mudar, adicione mais uma gota de Reagente 2 e misture até a amostra ficar transparente).
5. Insira a tira de teste no tubo de ensaio com as setas a apontar para baixo.
6. Decorridos cinco (5) minutos, retire a tira de teste do tubo e leia o resultado do ensaio.

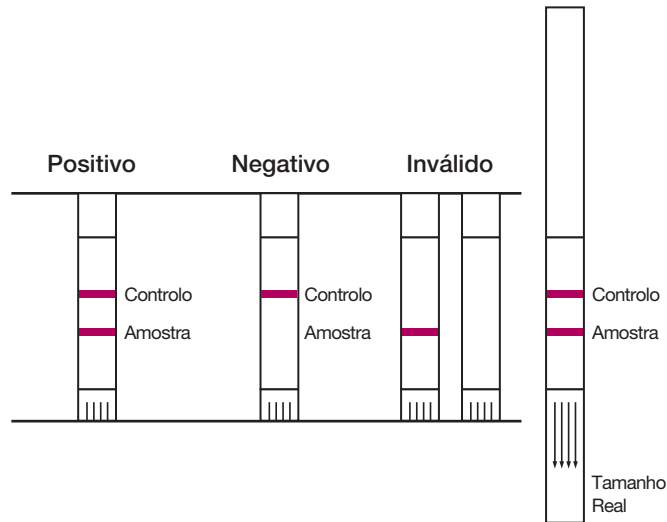
Interpretação de resultados

Para obter ajuda para efetuar a leitura da tira de teste, consulte o Gráfico de interpretação de resultados.

Para uma **amostra negativa**, a Linha de controlo COR DE ROSA/ROXA aparece na metade superior da tira de teste. Não aparece qualquer outra linha.

Para uma **amostra positiva**, aparece a Linha de controlo COR DE ROSA/ROXA E aparece uma segunda Linha de amostra COR DE ROSA/ROXA por baixo da linha de controlo, na metade inferior da tira de teste. Qualquer Linha de amostra, mesmo quando muito esbatida, indica um resultado positivo.

Um teste é **inválido** se a Linha de controlo COR DE ROSA/ROXA não aparecer, quer haja ou não uma Linha de amostra. Repita os testes Inválidos com uma nova tira de teste. Contacte o Apoio Técnico da Alere™ caso o problema persista.



Apresentação dos resultados

Resultado Interpretação sugerida

Positivo	Positivo para PBP2a
Negativo	Negativo para PBP2a
Inválido	Indeterminado; não comunique. Volte a testar a amostra e contacte a Assistência Técnica da Alere™ caso o problema persista.

Desempenho clínico

O desempenho clínico do Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test foi estabelecido num estudo clínico multicêntrico realizado em 2013 em três (3) laboratórios geograficamente distintos.

Foi avaliado um total de 454 amostras de *S. aureus* no Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, comparado com os resultados de difusão de disco de 30 µg de cefoxitina e interpretados de acordo com as normas do CLSI. O desempenho do Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test versus difusão de disco de cefoxitina, incluindo intervalos de confiança de 95% e estratificados por tipo de placa, é fornecido na Tabela 1.

Todos os controlos diários positivos e negativos geraram os resultados esperados.

Tabela 1: Desempenho do Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test vs. Difusão de disco de cefoxitina (30 µg) em isolados de *S. aureus*: Resultados por tipo de placa

Tipo de placa	Sensibilidade	I. C. de 95%	Especificidade	I. C. de 95%
Placa primária ¹	100,0% (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5% (134/136)	(94,8, 99,6)
Agar de soja triptica com sangue de ovino a 5%	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Agar Columbia com sangue de ovino a 5%	98,6% (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2% (237/239)	(97,0, 99,8)
Mueller Hinton com indução de 30 µg cefoxitina	99,1% (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6% (238/239)	(97,7, 99,9)

1: O Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test foi efetuado a partir de placas primárias de 2 de 3 centros clínicos. As placas primárias eram de Agar de soja triptica ou Agar Columbia, com a exceção de duas amostras provenientes de tipos de placa desconhecidos.

Desempenho analítico













Reatividade e especificidade analíticas

Foram testadas 162 estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) e 112 estirpes de *Staphylococcus aureus* sensíveis à metilina (MSSA) com o Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test com os resultados esperados. Estas estirpes bacterianas foram obtidas a partir da Network on Antimicrobial Resistance em *Staphylococcus aureus* (NARSA), da American Type Culture Collection (ATCC) e de um conjunto de estirpes do Departamento de Epidemiologia de Doenças Infeciosas do Imperial College em Londres, Inglaterra. Note que a cultura dos isolados testados não foi efetuada em placas de agar Columbia. Todos os controlos diários positivos e negativos geraram os resultados esperados.

Estudo de reprodutibilidade

Foi efetuado um estudo do Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test em 3 locais diferentes utilizando painéis de amostras cegas codificadas que continham amostras negativas e positivas em duplicado para cada painel. Cada um dos participantes testou um painel em 5 dias diferentes. Verificou-se uma concordância de 100,0% (600/600) com os resultados de teste esperados. Não se verificaram quaisquer diferenças assinaláveis intra-série (réplicas testadas por um operador), entre séries (5 dias diferentes), entre locais (3 locais) ou entre operadores (6 operadores). Note que a cultura dos isolados testados não foi efetuada em placas de agar Columbia. Todos os controlos diários positivos e negativos geraram os resultados esperados.

Símbolos

		
Consultar as instruções de utilização	Representante autorizado na Comunidade Europeia	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
		
Número de catálogo	Marca CE	Fabricante
		
Limite de temperatura	Pictograma relativo a perigo. Consulte as precauções.	Kit contém materiais suficientes para 25 testes
		
Não reutilizar	Código do lote	Válido até

Informações de encomenda e contacto

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

E.U.A.: 1 877 441 7440

Fora dos E.U.A.: +1 321 441 7200

Apoio técnico

Linha de aconselhamento

Para mais informações, contacte o seu distribuidor ou contacte a Assistência Técnica em Alere™:

E.U.A.

1-877-866-9341

TS.SCR@alere.com

África, Rússia, CIS

+972 8 9429 683

ARCISproductsupport@alere.com

Ásia-Pacífico

+61 7 3363 7711

APproductsupport@alere.com

Canadá

+1 800 818 8335

CANproductsupport@alere.com

Europa e Médio Oriente


+44 161 483 9032

EMEprouductsupport@alere.com

América Latina

+57 2 6618797

LAprouductsupport@alere.com

 893-000

Referências bibliográficas

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Scopul utilizării

Testul Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA este un test imunocromatografic calitativ, *in vitro* pentru detectarea rapidă a proteinei 2a care leagă penicilinele (PBP2a - Penicillin-Binding Protein 2a) în probe izolate din culturi identificate ca fiind *Staphylococcus aureus*, ca metodă ajutătoare pentru identificarea *Staphylococcus aureus* rezistent la metilicină (SARM).

Rezumat și explicarea testului

Se știe că detectarea precoce a infecțiilor cu stafilococi rezistenți la metilicină reduce costurile de îngrijire a sănătății, are rol esențial în cadrul eforturilor de a scădea morbiditatea și mortalitatea pacienților, reduce utilizarea empirică a vancomicinei și permite luarea unor decizii cu raport favorabil cost-eficiență pentru un control optim al pacienților.¹

Metodele convenționale de testare a sensibilității microbiene pot să dureze mai mult de 24 de ore, iar identificarea genei *mecA* este costisitoare și efectuarea acesteia durează mult timp. Detectarea proteinei 2a care leagă penicilinele (PBP2a) are însă avantajul, față de *mecA*, că identifică tulpinile care nu numai că conțin gena *mecA*, însă de asemenea produc proteina care conferă rezistență la metilicină.

Testul Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA reprezintă o metodă simplă și rapidă de detectare a proteinei PBP2a conținută în probele izolate din culturi de *Staphylococcus aureus* rezistent la metilicină.


Principiile procedurii

Testul Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA este un test imunocromatografic rapid de membrană care utilizează fragmente de anticorpi monoclonali recombinanți (rFab) cu sensibilitate înaltă, pentru a detecta proteina PBP2a direct din probele izolate din culturi microbiene. Fragmentele de anticorpi rFab și o proteină marcor sunt imobilizate pe o membrană nitrocelulozică sub forma a două linii distincte și sunt combinate cu o suprafață absorbantă pentru probă, o suprafață absorbantă conjugată de culoare roz/mov, precum și cu o suprafață absorbantă generală, pentru a forma o bandetă de testare.

Probele izolate din culturi sunt prelevate direct de pe placa de cultură și plasate pentru eluție într-o eprubetă de testare care conține Reactivul 1. Apoi se adaugă Reactivul 2, după care bandeta de testare se introduce în eprubeta de testare. Rezultatele sunt interpretate vizual după 5 minute.

Reactivi și materiale

Materiale furnizate în kitul testului Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA

- **Banetele de testare:** O bandetă de testare acoperită cu un strat superficial din plastic cu săgeți de orientare care arată poziția de testare.
- **Reactiv 1:** Soluție alcalină limpede, de culoare albastră. 
- **Reactiv 2:** Soluție ușor acidă limpede, care conține azidă de sodiu cu rol de tamponare și surfactanți.
- **Eprubete de testare**
- **Stative de testare**

Materiale necesare care nu sunt furnizate:

Ceas, cronometru, anse bacteriologice, mixer de tip vortex, precum și tulpini martor externe, pozitive și negative.

Martori externi pozitivi și negativi

Martorii recomandați sunt enumerați mai jos. Ca alternativă, laboratoarele pot utiliza tulpini rezistente și sensibile de *S. aureus* utilizate de rutină, cu condiția ca rezultatele martor să fie cele preconizate.

Martor pozitiv: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Martor negativ: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Măsuri de precauție

1. Numai pentru utilizare în scop diagnostic *in vitro*.
2. În cazul în care componentele kitului au fost refrigerate, așteptați ca toate să ajungă la temperatura camerei (15-30°C) înainte de utilizare.
3. Lăsați bandelele de testare în ambalajul său sigilat din folie până în momentul utilizării.
4. Evitați contactul cu pielea și ochii al reactivilor și bandelele de testare.
5. Nu utilizați kituri cu data de expirare depășită.
6. Nu schimbați între ele și nu amestecați elemente componente ale unor kituri provenite din loturi diferite.
7. La fel ca în cazul oricărei probe microbiene, martorii și bandelele de testare pot să conțină microorganisme patogene. Manevrați-le prin respectarea măsurilor de precauție adecvate și eliminați materialele în condiții de siguranță, în recipiente pentru deșeurii cu risc biologic.
8. Testul Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA trebuie efectuat numai pe probe izolate din culturi de *Staphylococcus aureus*.

9. Reactivul 1 conține hidroxid de sodiu.

PERICOL: provoacă arsuri severe la nivelul pielii și leziuni oculare.



10. Fișele tehnice de securitate pentru acest produs sunt disponibile la cerere.
11. Respectați reglementările dumneavoastră naționale, regionale și locale referitoare la eliminarea deșeurilor.
12. Reactivul 2 conține azidă de sodiu.

Păstrare și stabilitate

Păstrați componentele kitului la temperatura camerei sau la frigider (2-30°C).

Kitul testului Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA și reactivii sunt stabili până la datele de expirare menționate pe ambalajul exterior al acestora.

Verificarea calității

Verificarea zilnică a calității:

Testul Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA include o linie martor care poate avea rezultate pozitive sau negative. În scopul verificării calității, Alere vă recomandă să faceți această verificare cu ocazia fiecărei testări.

Procedură de verificare:

- A. Apariția unei linii de culoare roz/mov la nivelul „liniei martor” poate fi considerată un rezultat pozitiv al procedurii interne de verificare. În situația în care are loc difuziunea capilară, această linie va apărea întotdeauna.
- B. În comparație cu culoarea liniei martor, culoarea de fundal a bandelei de testare trebuie să fie albă în decurs de 5 minute.

Martori externi pozitivi și negativi:

Bunele practici de laborator recomandă utilizarea martorilor pozitivi și negativi pentru a vă asigura de următoarele:

- reactivii de testare funcționează în mod adecvat și
- testul este efectuat în mod corect.

Martorii externi pozitivi și negativi trebuie testați în cazul fiecărui lot nou. Aceștia vor monitoriza testarea în totalitatea sa. Rezultatele acestor probe martor trebuie înregistrate. Pentru instrucțiuni suplimentare, vă rugăm să consultați secțiunea Procedura de pregătire a probelor.

Martorii recomandați sunt enumerați mai jos. Ca alternativă, laboratoarele pot folosi tulpini rezistente și sensibile de *S. aureus* utilizate de rutină, cu condiția ca rezultatele martor să fie cele preconizate.

Tulpini martor recomandate:

Martor pozitiv: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Martor negativ: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Pot fi testați și alți martori în scopul conformității cu următoarele:

- reglementări la nivel local, de stat și/sau federal,
- grupuri de acreditare și/sau
- procedurile standard de verificare a calității ale laboratorului dumneavoastră.

În cazul în care nu sunt obținute rezultatele corecte de verificare, nu raportați rezultatele. Contactați asistența tehnică (vă rugăm să consultați secțiunea Informații referitoare la comenzi și contact).

Prelevarea și manevrarea eșantioanelor

Eșantioanele sunt probe microbiene izolate din culturi de *Staphylococcus aureus*. Se recomandă utilizarea culturilor proaspete (<24 ore). Funcționarea testului Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA nu a fost stabilită în cazul utilizării de eșantioane refrigerate.

Medii de cultură

Coloniile de *S. aureus* pot fi testate din oricare dintre următoarele medii de cultură:

- Agar triptonă soia (agar triptoză soia) cu sânge de oaie 5% (sânge ATS)
- Agar Columbia cu sânge de oaie 5%
- Agar Mueller Hinton

Procedura de verificare

1. Efectuați o cultură secundară a tulpinii martor pe o placă de cultură. Incubați placa până a doua zi la 33-35°C timp de 18-24 de ore.
2. Urmați procedura de testare descrisă în continuare.

Procedura de testare

În cazul în care acestea au fost refrigerate, așteptați ca reactivii și bandelele de testare să ajungă la temperatura camerei (15-30°C) înainte de a efectua testarea.

Testul poate fi efectuat fie pe colonii bine izolate de pe placa principală, în cazul în care acestea au crescut suficient, fie pe culturi secundare ale probelor izolate din culturi.

1. Ținând flaconul cu picurător în poziție verticală, adăugați două picături din Reactivul 1 într-o eprubetă de testare.
2. Cu ajutorul unei anse bacteriologice de 1 μl, luați o cantitate de probă cu vârf (un inocul serios) din coloniile bine izolate de pe placa de cultură, introduceți-o în eprubetă și amestecați temeinic.

- Ținând flaconul cu picurător în poziție verticală, adăugați două picături din Reactivul 2 în eprubetă.
- Amestecați pentru scurt timp în mixerul de tip vortex. Soluția albastră trebuie să se transforme într-o culoare limpede (dacă nu se modifică culoarea, adăugați încă o picătură din Reactivul 2 și amestecați până când proba devine limpede).
- Introduceți bandeleta de testare în eprubeta de testare, cu săgețile orientate în jos.
- După cinci (5) minute, retrageți bandeleta de testare din eprubetă și interpretați rezultatul testului.

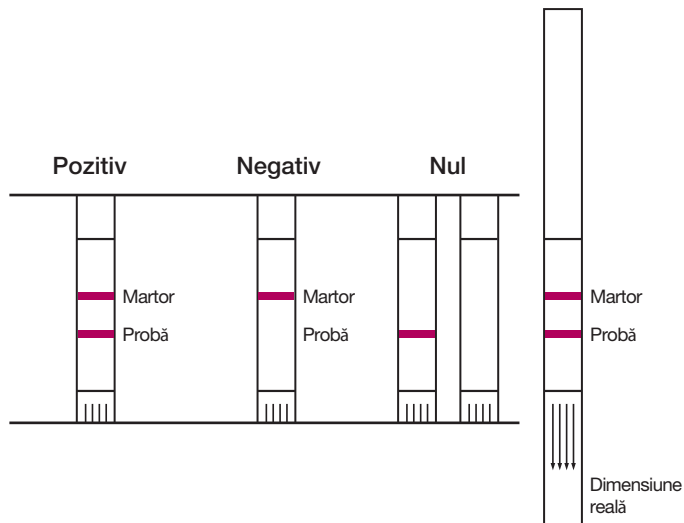
Interpretarea rezultatelor

Pentru a vă ajuta în interpretarea rezultatelor, consultați graficul de interpretare a rezultatelor.

În cazul unei **probe negative**, apare o linie martor ROZ/MOV în jumătatea superioară a bandeletei de testare. Nu apare nicio altă linie.

În cazul unei **probe pozitive**, apare linia martor ROZ/MOV, precum și o a doua linie ROZ/MOV, linia probei, sub prima linie, în jumătatea inferioară a bandeletei de testare. Orice linie a probei, chiar dacă este foarte palidă, este pozitivă.

Testul este **nul** dacă nu apare linia martor ROZ/MOV, indiferent dacă există sau nu o linie a probei. Testul nul trebuie repetat utilizând o bandeletă de testare nouă. În cazul în care problema persistă, contactați asistența tehnică Aleré™.



Raportarea rezultatelor

Rezultat	Raportare recomandată
Pozitiv	Pozitiv pentru PBP2a
Negativ	Negativ pentru PBP2a
Nul	Neconcludent; nu îl raportați. În cazul în care problema persistă, efectuați din nou testarea probei și contactați serviciul de asistență tehnică Aleré™.

Funcționarea în condiții clinice

Funcționarea în condiții clinice a testului Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA a fost stabilită în cadrul unui studiu clinic multicentric desfășurat în 2013 în trei (3) laboratoare cu localizări geografice diferite.

A fost evaluat un număr total de 454 de probe de *S. aureus* prin testul Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA. Acestea au fost comparate cu rezultatele difuzimetriei cu discuri de cefoxitină de 30 μg și au fost interpretate în conformitate cu standardele Institutului pentru standarde clinice și de laborator (CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute). Funcționarea testului Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA în comparație cu difuzimetria cu discuri de cefoxitină, inclusiv intervalele de încredere de 95%, sunt prezentate în Tabelul 1.

Toate verificările zilnice cu martori pozitivi și negativi au generat rezultatele preconizate.

Tabelul 1: Funcționarea testului Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA în comparație cu difuzimetria cu discuri de cefoxitină (30 μg) în cazul probelor izolate din culturi de *S. aureus*: Rezultatele în funcție de tipul de placă

Tip de placă	Sensibilitate	I.Î. 95%	Specificitate	I.Î. 95%
Placă principală¹	100,0% (129/129)	(97,1 - 100,0)	98,5% (134/136)	(94,8 - 99,6)
Agar triptoză soia cu sânge de oaie 5%	99,1% (213/215)	(96,7 - 99,8)	99,2% (237/239)	(97,0 - 99,8)
Agar Columbia cu sânge de oaie 5%	98,6% (212/215)	(96,0 - 99,5)	99,2% (237/239)	(97,0 - 99,8)
Mueller Hinton cu inducție cu cefoxitină 30 μg	99,1% (213/215)	(96,7 - 99,8)	99,6% (238/239)	(97,7 - 99,9)

1: În cazul a două din 3 centre clinice, testul Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA a fost efectuat pe plăci principale. Plăcile principale au fost fie agar triptoză soia, fie agar Columbia, cu excepția a două probe la care nu se cunoștea tipul de placă.

Funcționarea în condiții analitice













Reactivitatea și specificitatea analitică

162 tulpini de *Staphylococcus aureus* rezistente la metilicină (SARM) și 112 tulpini de *Staphylococcus aureus* sensibile la metilicină (SASM) au fost testate cu ajutorul testului Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA, obținându-se rezultatele care fuseseră preconizate. Aceste tulpini microbiene au fost obținute din Rețeaua privind rezistența microbiană a *Staphylococcus aureus* (NARSA, Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*), Colecția de culturi de tip american (ATCC, American Type Culture Collection) și dintr-o colecție de tulpini a Departamentului de epidemiologie a bolilor infecțioase (Department of Infectious Disease Epidemiology) din cadrul Imperial College din Londra, Anglia. Vă rugăm să rețineți că probele izolate din culturi care au fost testate nu au provenit din culturi care au utilizat plăci cu agar Columbia. Toate verificările zilnice cu martori pozitivi și negativi au generat rezultatele preconizate.

Studiu de reproductibilitate

A fost desfășurat un studiu al testului Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA în 3 centre diferite, prin utilizarea unor grupuri de eșantioane mascate cu ajutorul unor coduri, care conțineau probe negative și pozitive în duplicat pentru fiecare grup. Fiecare participant la studiu a testat câte un grup în 5 zile diferite. A existat o concordanță de 100% (600/600) cu rezultatele preconizate ale testelor. Nu au existat diferențe semnificative în cadrul fiecărei testări (duplicatale testate de un operator), între testări diferite (în 5 zile diferite), între centre (3 centre) sau între operatori (6 operatori). Vă rugăm să rețineți că probele izolate din culturi care au fost testate nu au provenit din culturi care au utilizat plăci cu agar Columbia. Toate verificările zilnice cu martori pozitivi și negativi au generat rezultatele preconizate.

Simboluri

		
Consultați instrucțiunile de utilizare	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
		
Număr de catalog	Marcaj CE	Producător
		
Limitare de temperatură	Pictogramă referitoare la pericol. Consultați măsurile de precauție.	Kitul conține materiale suficiente pentru 25 de teste
		
Nu reutilizați	Codul lotului	Utilizați înainte de

Informații referitoare la comenzi și contact

893-000 Test Alere™ PBP2a pentru colonii de cultură SA

SUA: 1 877 441 7440

În afara SUA: +1 321 441 7200

Asistență tehnică

Linie de consiliere

Puteți obține informații suplimentare de la distribuitorul dumneavoastră sau contactând asistența tehnică Alere™:

SUA

1-877-866-9341 TS.SCR@alere.com

Africa, Rusia, CSI

+972 8 9429 683 ARCISproductsupport@alere.com

Asia Pacific

+61 7 3363 7711 APproductsupport@alere.com

Canada


+1 800 818 8335 CANproductsupport@alere.com

Europa și Orientul Mijlociu

+44 161 483 9032 EMEproductsupport@alere.com

America Latină

+57 2 6618797 LAPproductsupport@alere.com

 893-000

Referințe

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia (Impactul clinic și economic al rezistenței la metilicină asupra pacienților care prezintă bacteriemie cu *S. aureus*). Diagn Microbiol Infect Dis (Microbiologie diagnostică și boli infecțioase). 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

Avsedd användning

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test är en kvalitativ, *in vitro* immunokromatografisk analys för snabb upptäckt av penicillin-bindande protein 2a (PBP2a) i isolat vilka identifierats som *Staphylococcus aureus* som hjälp för att identifiera meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Sammanfattning och förklaring av testet

Tidig upptäckt av meticillinresistenta stafylokockinfektioner är känt för att ge minskade vårdkostnader, avgörande för att minska patienters sjuklighet och dödlighet, minskar empirisk användning av vancomycin och medger kostnadseffektiva beslut för optimal patienthantering.¹

Konventionella metoder för resistenstestning kan ta över 24 timmar och identifiering av *mecA*-gener är dyrbart och tidsödande att utföra. Detektering av penicillinbindande protein 2a (PBP2a) har den fördelen jämfört med *mecA* att det identifierar stammar som inte bara bär på *mecA*-genen utan också framställer det protein som ger resistens mot meticillinresistens.

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test är en enkel och snabb metod för att upptäcka PBP2a-protein i isolat från meticillinresistenta *Staphylococcus aureus*.


Procedurens principer

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test är en snabb immunokromatografisk membrananalys som använder högkänsliga rekombinanta monoklonala antikroppsfragment (rFabs) för att detektera PBP2a-protein direkt i bakterieisolat. rFab och ett kontrollprotein fixeras på ett membran av nitrocellulosa som två åtskilda linjer och kombineras med en provdyna, en rosa/lilafärgad konjugatdyna och en absorptionsdyna till en testremsa.

Isolat tas direkt från odlingsplattan och elueras i ett provrör som innehåller Reagens 1. Därefter tillsätts Reagens 2 varefter testremsan placeras i provröret. Resultatet kan avläsas visuellt efter 5 minuter.

Reagenser och material

Material som ingår i Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kit

- **Testremsor:** En testremsa täckt med ett ytskikt av plast med pilar som anger testposition.
- **Reagens 1:** En genomskinlig blå alkalisk lösning. 
- **Reagens 2:** En genomskinlig, svagt sur lösning innehållande natriumazidbuffert och ytaktiva ämnen.
- **Provrör**
- **Testställ**

Material som behövs men inte ingår:

Klocka, timer eller tidtagarur, bakteriologiska öglor, vortexblandare och externa positiva och negativa kontrollstammar.

Externa positiva och negativa kontroller

Rekommenderade kontroller anges nedan. Alternativt kan laboratorier använda resistent och icke-resistent *S. aureus*-stammar, som används rutinmässigt, under förutsättning att kontrollresultaten är de förväntade.

Positiv kontroll: *Staphylococcus aureus*, ATCC-nr 43300

Negativ kontroll: *Staphylococcus aureus*, ATCC-nr 25923

Försiktighetsåtgärder

1. Enbart avsedd för *in vitro*-diagnostik.
2. Efter nedkyllning, låt samtliga komponenter i satsen uppnå jämvikt till rumstemperatur (15-30°C) före användning.
3. Låt testremsan förbli i sin förseglade foliepåse tills alldeles före användning.
4. Undvik att reagenser och testremsa kommer i kontakt med hud och ögon.
5. Använd inte satsen efter dess utgångsdatum.
6. Byt eller blanda inte komponenter från olika partier.
7. Liksom för alla bakterieprover, kan kontroller och testremsor innehålla patogena organismer. Hantera med lämpliga försiktighetsåtgärder och kassera material på säkert sätt i kärl för bioriskavfall.
8. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ska endast utföras på isolat av *Staphylococcus aureus*.
9. Reagens 1 innehåller natriumhydroxid.
Fara! Orsakar allvarliga brännskador på huden och allvarliga ögonskador.
10. Säkerhetsdatablad för denna produkt finns tillgängliga på begäran.
11. Följ era nationella, regionala och lokala förordningar gällande avfallshantering.
12. Reagens 2 innehåller natriumazid.



Förvaring och stabilitet

Förvara satsens komponenter i rumstemperatur eller nedkylda (2-30°C).

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test-sats och reagenser är stabila tills det utgångsdatum som anges på ytterförpackningen.

Kvalitetskontroll

Daglig kvalitetskontroll:

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test har inbyggda positiva och negativa procedurkontroller. För kvalitetskontrolländamål föreslår Alere att du registrerar dessa kontroller för varje testkörning.

Procedurkontroller:

- A. En rosa/lilafärgad linje vid kontrollinjens position kan anses vara en positiv intern procedurkontroll. Denna linje framträder alltid i fall det har förekommit kapillärflöde.
- B. Jämfört med kontrollinjens färg ska testremsans bakgrundsfärg vara vit inom 5 minuter.

Externa positiva och negativa kontroller:

God laboratoriepraxis föreskriver att positiva och negativa kontroller bör användas för att säkerställa att:

- testreagenserna fungerar och
- att testet utförs på korrekt sätt.

För varje nytt parti bör externa positiva och negativa kontroller testas. Dessa kommer att kontrollera hela analysen. Resultaten för dessa kontrollprover bör registreras. Se avsnittet Provförberedelseprocedur för ytterligare instruktioner.

Rekommenderade kontroller anges nedan. Alternativt kan laboratorier använda resistent och icke-resistent *S. aureus*-stammar, som används rutinmässigt, under förutsättning att kontrollresultaten är de förväntade.

Rekommenderade kontrollstammar:

Positiv kontroll: *Staphylococcus aureus* ATCC-nr 43300

Negativ kontroll: *Staphylococcus aureus* ATCC-nr 25923

Andra kontroller måste eventuellt testas för att

- lokala och/eller nationella föreskrifter,
- ackrediteringsorgan och/eller
- ditt laboratoriums normala procedurer för kvalitetskontroll ska uppfyllas.

Om inga korrekta kontrollresultat kan erhållas ska inga resultat rapporteras.
Kontakta teknisk support (se avsnittet för beställnings- och kontaktinformation).

Insamling och hantering av prover

Prover utgörs av bakterieisolat av *Staphylococcus aureus*. Vi rekommenderar användning av färska (<24 timmar) odlingar. Prestanda för Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test har inte fastställts vid användning av kyllda prover.

Odlingsmedia

S. aureus -kolonier från något av följande odlingsmedia kan testas:

- Trypton sojaagar (Tryptisk sojaagar) med 5 % fårblod (TSA-blod)
- Columbia-agar med 5 % fårblod
- Mueller Hinton-agar

Kontrollprocedurer

1. Odlad kontrollstammen på en odlingsplatta. Inkubera plattan över natten vid 33-35 °C i 18-24 timmar.
2. Följ analysproceduren nedan.

Analysprocedur

Efter nedkylning, låt samtliga komponenter i satsen uppnå jämvikt till rumstemperatur (15-30 °C) före användning.

Testet kan utföras från välisolerade kolonier på primärplattan om där är tillräcklig växt eller från en subkultur av isolatet.

1. Håll droppflaskan lodrätt och tillsätt två droppar reagens 1 till ett provrör.
2. Ta en rågad 1 µl bakteriologisk ögla (tungt inokulat) av provodling från välisolerade kolonier på en odlingsplatta, placera i provröret och blanda grundligt.
3. Håll droppflaskan lodrätt och tillsätt två droppar reagens 2 till provröret.
4. Blanda lätt. Den blå lösningen måste ändras till färglös (om färgen inte ändras, tillsätt ytterligare en droppe reagens 2 och blanda tills provet blir ofärgat).
5. För in testremsan i provröret med pilarna pekande nedåt.
6. Efter fem (5) minuter ska testremsan tas ur röret och analysresultatet avläsas.

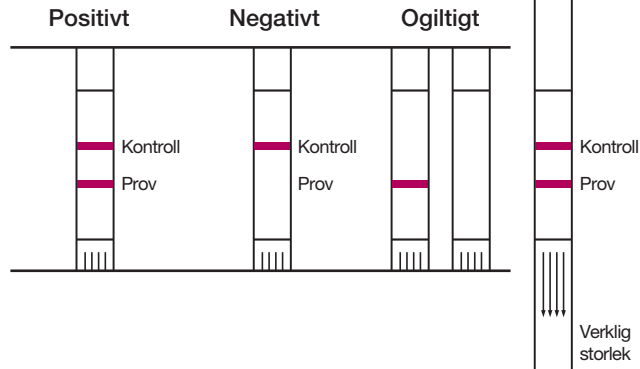
Tolkning av resultat

För hjälp med avläsning av testremsan, se bild för tolkning av resultat.

För **negativt provresultat** ska en ROSA/LILAFÄRGAD kontrollinje framträda på testremsans övre halva. Inga andra linjer syns.

För **positivt provresultat** ska både den ROSA/LILAFÄRGADE kontrollinjen OCH ytterligare en ROSA/LILAFÄRGAD provlinje under den framträda på testremsans nedre halva. Alla provlinjer, även om de är mycket svaga, är positiva.

Testet är **ogiltigt** om ingen ROSA/LILAFÄRGAD kontrollinje framträder, oavsett förekomst av provlinje. Upprepa ogiltiga tester med en ny testremsa. Ring Alere™ teknisk support om problemet kvarstår.



Resultatrapportering

Resultat	Föreslagen rapport
Positivt	Positiv för PBP2a
Negativt	Negativ för PBP2a
Ogiltigt	Obestämt, rapportera inte. Testa provet igen och kontakta Alere™ teknisk support om problemet kvarstår.

Kliniska prestanda

Kliniska prestanda för Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test fastställdes med en multi-center, klinisk studie, som utfördes 2013 vid tre (3) geografiskt skilda laboratorier.

Totalt utvärderades 454 *S. aureus*-prover med Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test och jämfördes med resultaten från 30 µg cefoxitin-diskdiffusion och tolkades i enlighet med CLSI standard. Prestanda för Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test jämfört med cefoxitin-diskdiffusion, inklusive 95 % konfidensintervall och stratifierad efter typ av platta visas i Tabell 1:

Alla positiva och negativa dagliga kontroller gav förväntade resultat.

Tabell 1: Prestanda för Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test jämfört med Cefoxitin (30 µg) diskdiffusion av *S. aureus*-isolat: Resultat efter typ av platta

Typ av platta	Känslighet	95 % C.I.	Specificitet	95 % C.I.
Primärplatta¹	100,0 % (129/129)	(97,1, 100,0)	98,5 % (134/136)	(94,8, 99,6)
Tryptisk sojaagar med 5 % färblood	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Columbia Agar med 5 % färblood	98,6 % (212/215)	(96,0, 99,5)	99,2 % (237/239)	(97,0, 99,8)
Mueller Hinton med 30 µg cefoxitin-induktion	99,1 % (213/215)	(96,7, 99,8)	99,6 % (238/239)	(97,7, 99,9)

1: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test utfördes från primärplattor vid 2 av 3 kliniker. Primärplattorna var antingen tryptisk sojaagar eller Columbia-agar med undantag för två prover av okänd plattyp.

Analytisk prestanda













Analytisk reaktivitet och specificitet

162 stammar meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA) och 112 stammar icke-meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MSSA) testades med Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test med förväntade resultat. Dessa bakteriestammar erhöles från Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA), American Type Culture Collection (ATCC) och ett antal stammar från Department of Infectious Disease Epidemiology vid Imperial College i London. Observera att de testade isolaten inte odlats med Columbia agar-plattor. Alla positiva och negativa dagliga kontroller gav förväntade resultat.

Studie om reproducerbarhet

En studie av Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test utfördes vid 3 separata kliniker med användning av uppsättningar av blindkodade prover innehållande dubletter av negativa och positiva prover för vardera uppsättning. Deltagarna testade en uppsättning vardera under 5 olika dagar. Resultatet överensstämde till 100,0 % (600/600) med förväntade testresultat. Inga signifikanta skillnader förekom inom en testuppsättning (upprepade tester av samma testare), mellan testuppsättningar (5 olika dagar), mellan kliniker (3 kliniker) eller mellan olika testare (6 testare). Observera att de testade isolaten inte odlats med Columbia agar-plattor. Alla positiva och negativa dagliga kontroller gav förväntade resultat.

Symboler

		
Se bruksanvisningen	Auktoriserad representant inom EU	Medicinteknisk produkt avsedd för <i>in vitro</i> -diagnostik
		
Katalognummer	CE-märkning	Tillverkare
		
Temperaturbegränsning	Risksymboler. Se säkerhetsföreskrifterna.	Satsen innehåller tillräckligt med material för 25 tester
		
Återanvänd inte	Partikod	Används före

Beställnings- och kontaktinformation

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

USA: 1 877 441 7440

Utanför USA: +1 321 441 7200

Teknisk support

Rådgivningslinjen

Ytterligare information kan erhållas från din distributör eller genom att kontakta Alere™ teknisk support på:

USA

1-877-866-9341

TS.SCR@alere.com

Afrika, Ryssland och CIS-länder

+972 8 9429 683

ARCISproductsupport@alere.com

Stillaohavsområdet

+61 7 3363 7711

APproductsupport@alere.com

Kanada

+1 800 818 8335

CANproductsupport@alere.com

Europa och Mellanöstern


+44 161 483 9032

EMEproductsupport@alere.com

Sydamerika

+57 2 6618797

LAPproductsupport@alere.com

 893-000

Referenser

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



PBP2a SA Culture Colony Test

Kullanım Amacı

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) saptamaya yardımcı olmak için *Staphylococcus aureus* olarak tanımlanan izolatlarda penisilin bağlayıcı protein 2a'nın (PBP2a) hızlı tespiti için kullanılan kalitatif bir *in vitro* immünokromatografik testtir.

Test Özeti ve Açıklaması

Metisilin dirençli Stafilocok enfeksiyonlarının erken tespiti sağlık harcamalarını azaltır, hasta morbidite ve mortalitesini azaltmada önemlidir, vankomisin ampirik kullanımını azaltır ve optimum hasta yönetimi için uygun maliyetli kararlar alınmasını sağlar.¹

Geleneksel antimikrobiyal duyarlılık test yöntemleri 24 saatten uzun sürebilir ve *mecA* geninin saptanması pahalıdır ve uzun sürer. Fakat penisilin bağlayıcı protein 2a (PBP2a) tespiti *mecA*'ya kıyasla hem *mecA* genini içeren hem de metisilin direnci sağlayan proteinleri üreten suşları saptamada daha avantajlıdır.

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarında bulunan PBP2a proteinini tespit etmede basit ve hızlı bir yöntem sağlar.


Prosedür İlkeleri

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, PBP2a proteinini doğrudan bakteriyel izolatlardan tespit etmek için yüksek duyarlıklılı rekombinant monoklonal antikor parçacıklarından (rFab) istifade eden hızlı bir immünokromatografik membran testidir. rFab ve bir kontrol proteini, nitorsellüloz membranı iki ayrı hat halinde bloke eder ve test sribi oluşturmak için bir numune pedi, bir pembe/mor konjuge ped ve bir absorpsiyon pediyle kombine edilir.

İzolatlar doğrudan kültür plakasından numune olarak alınır ve içerisinde Reaktif 1 bulunan bir test tüpüne ayrıştırılır. Daha sonra Reaktif 2 eklenir ve test sribi test tüpüne yerleştirilir. Sonuçlar 5. dakikada görsel olarak okunur.

Reaktifler ve Materyaller

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kit İçerisinde Temin Edilen Materyaller

- **Test Stripleri:** Test pozisyonunu gösteren yön okları olan plastik bir kaplama ile kaplı bir test sribi.
- **Reaktif 1:** Berrak, mavi alkalin solüsyonu. 
- **Reaktif 2:** Sodyum azid tamponu ve sürfaktanlar içeren berrak, hafif asidik solüsyon.
- **Test Tüpleri**
- **Test Rafları**

Gerekli Ancak Birlikte Verilmeyen Materyaller:

Saat, kronometre veya süre ölçer, bakteriyolojik halkalar, vorteks karıştırıcı ve harici pozitif ve negatif kontrol suşları.


Harici Pozitif ve Negatif Kontroller

Önerilen kontroller aşağıda listelenmiştir. Kontrol sonuçlarının beklendiği gibi olması şartıyla, laboratuvarlar alternatif olarak düzenli aralıklarla kullanılan dirençli ve duyarlı *S. aureus* suşlarını kullanabilir.

Pozitif Kontrol: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 43300

Negatif kontrol: *Staphylococcus aureus*, ATCC # 25923

Önlemler

1. Yalnızca *in vitro* tanısal kullanım içindir.
2. Soğutulmuş ise kullanmadan önce tüm kit bileşenlerinin oda sıcaklığına (15-30°C) dengelenmesini bekleyin.
3. Kullanımdan hemen öncesine kadar test sribi folyo poşetinde kapalı kalmalıdır.
4. Reaktifler ve test sribinin cildinize ve gözünüze temas etmesinden kaçınin.
5. Kiti son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
6. Farklı kit lotlarından gelen bileşenleri birbiri ile değiştirmeyin veya karıştırmayın.
7. Tüm bakteriyel numunelerde olduğu gibi, kontroller ve test stripleri patojenik organizmalar içerebilir, uygun önlemlerle kullanın ve materyalleri güvenli bir şekilde biyolojik tehlikeli atık kaplarına atın.
8. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test yalnızca *Staphylococcus aureus* izolatlarına uygulanmalıdır.
9. Reaktif 1 Sodyum hidroksit içermektedir.  Tehlike, ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.
10. Bu ürüne yönelik Güvenlik Bilgi Dosyaları istek üzerine temin edilir.
11. Atık düzenlemeleri için ulusal, bölgesel ve yerel yönetmeliklerinize uyun.
12. Reaktif 2 sodyum azid içermektedir.

Saklama ve Stabilite

Kit bileşenlerini oda sıcaklığında ya da soğutarak saklayın (2-30°C).

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Kiti ve reaktifler ambalajın dışında yer alan son kullanma tarihine dek stabildir.

Kalite Kontrol

Günlük Kalite Kontrol:

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test içerisinde prosedüre ilişkin dahili pozitif ve negatif kontroller bulunmaktadır. Alere, kalite kontrol için yapılan her testte bu kontrolleri kaydetmenizi önerir.

Prosedüre İlişkin Kontroller:

- A. "Kontrol çizgisi" konumunda pembe/mor çizgi görünmesi prosedüre ilişkin dahili pozitif kontrol olarak değerlendirilebilir. Kapiler akış meydana gelirse bu çizgi her zaman görünür.
- B. Kontrol çizgisinin rengine kıyasla test sribindeki arka plan rengi 5 dakika içerisinde beyaz olmalıdır.

Harici Pozitif ve Negatif Kontroller:

İyi laboratuvar uygulamaları aşağıdakileri sağlamak için pozitif ve negatif kontrollerin kullanılmasını önerir:

- test reaktiflerinin çalışması ve
- testin doğru biçimde gerçekleştirilmesi.

Her yeni lot için harici pozitif ve negatif kontroller test edilmelidir. Bunlar tüm testi izleyecektir. Bu kontrol numunelerinin sonuçları kaydedilmelidir. Daha fazla talimat için lütfen Numune Hazırlama Prosedürü bölümüne bakın.

Önerilen kontroller aşağıda listelenmiştir. Kontrol sonuçlarının beklendiği gibi olması şartıyla, laboratuvarlar alternatif olarak düzenli aralıklarla kullanılan dirençli ve hassas *S. aureus* suşlarını kullanabilir.

Önerilen Kontrol Suşları:

Pozitif Kontrol: *Staphylococcus aureus* ATCC # 43300

Negatif kontrol: *Staphylococcus aureus* ATCC # 25923

Diğer kontroller aşağıdakilerle uyumluluk konusunda test edilebilir:

- yerel, eyalet ve/veya federal düzenlemeler,
- yetkili gruplar ve/veya
- laboratuvarınızın standart Kalite Kontrol prosedürleri.

Doğru kontrol sonuçları elde edilmezse sonuçları rapor etmeyin. Teknik Destek ile İrtibata Geçin (lütfen Sipariş ve İletişim Bilgileri bölümüne bakın).

Numune Alma ve Kullanma

Numuneler bakteriyel *Staphylococcus aureus* izolatlarıdır. Taze (<24 saat) kültürlerin kullanımı önerilmektedir. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test performansı, soğutulmuş numunelerle kullanım için belirlenmemiştir.

Kültür Ortamı

S. aureus kolonileri aşağıda belirlenen kültür ortamlarından herhangi birinden test edilebilir:

- %5 koyun kanıyla (TSA kanı) Trypton Soy Agar (Triptik Soy Agar)
- %5 koyun kanıyla Columbia Agar
- Mueller Hinton Agar

Kontrol Prosedürleri

1. Kontrol suşunu, kültür plakası üzerine subkültür yapın. Plakayı geceden 33-35°C'de 18-24 saat inkübe edin.
2. Aşağıdaki Test Prosedürünü izleyin.

Test Prosedürü

Soğutulmuş ise test etmeden önce tüm reaktif ve test striplerinin oda sıcaklığına (15-30°C) dengelenmesini bekleyin.

Test, yeterli büyüme varsa primer plaka üzerindeki iyi izole edilmiş kolonilerden veya izolatın subkültüründen yapılabilir.

1. Damlalık şişesini dik bir şekilde tutarak bir test tüpüne iki damla Reaktif 1 ekleyin.
2. Kültür plakasının üzerindeki iyi izole edilmiş kolonilerden 1 µl'lik bakteriyolojik halka (ağır bir inokulum) yığınızı numunesi alın ve tüpe yerleştirip iyice karıştırın.
3. Damlalık şişesini dik bir şekilde tutarak bir test tüpüne iki damla Reaktif 2 ekleyin.
4. Kısa süre ile vorteksleyin. Mavi solüsyon berrak bir renk almalıdır (eğer renk değişimi olmazsa, bir damla daha Reaktif 2 ekleyin ve numune berrak olana kadar karıştırın).
5. Test sribini test tüpüne oklar aşağıyı gösterecek şekilde koyun.
6. Beşinci (5) dakikada, test sribini tüpten çıkarın ve test sonucunu okuyun.

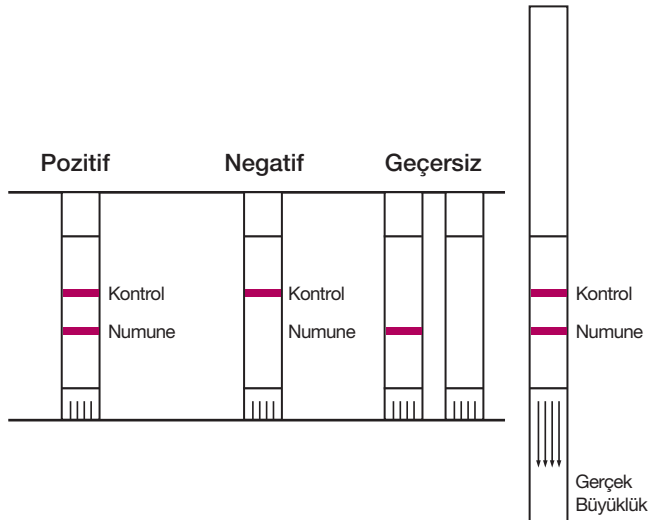
Sonuç Yorumlama

Test sribini okuma konusunda yardım almak için bkz. Sonuç Yorumlama Grafiği.

Negatif Numune için, test sribinin üst yarısında PEMBE/MOR Kontrol Çizgisi görünür. Başka bir çizgi görünmez.

Pozitif Numune için, PEMBE/MOR Kontrol Çizgisi görünür VE onun altında test sribinin alt yarısında ikinci bir PEMBE/MOR Numune Çizgisi görünür. Herhangi bir Numune Çizgisi, belli belirsiz bile olsa, pozitifdir.

Numune Çizgisi olsa da olmasa da, PEMBE/MOR Kontrol Çizgisi görünmezse test **Geçersiz** demektir. Geçersiz testleri yeni bir test sribiyle tekrarlayın. Sorun devam ederse Alere™ Teknik Desteği arayın.



Sonuçların Raporlanması

Sonuç	Önerilen Rapor
Pozitif	PBP2a için Pozitif
Negatif	PBP2a için Negatif
Geçersiz	Belirsiz, rapor etmeyin. Numuneyi yeniden test edin ve sorun devam ederse Alere™ Teknik Servis Desteği ile irtibata geçin.

Klinik Performans

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test'in klinik performansı 2013 yılında coğrafi olarak üç (3) farklı laboratuvarında gerçekleştirilen çok merkezli klinik bir çalışmada tespit edilmiştir.

Toplam 454 *S. aureus* numunesi Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ile değerlendirilmiş, 30 µg sefoksitin disk difüzyonu sonuçlarıyla karşılaştırılmış ve CLSI standartlarına göre yorumlanmıştır. Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test performansı ile sefoksitin disk difüzyon karşılaştırması, %95 güven aralıkları ve plaka türüne göre tabakalarla birlikte Tablo 1'de verilmiştir.

Tüm pozitif ve negatif günlük kontroller beklenen sonuçları oluşturmuştur.

Tablo 1: *S. aureus* İzolatlarında Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test Performansı ile Sefoksitin (30 µg) Disk Difüzyonu Karşılaştırması: Plaka Türüne göre Sonuçlar

Plaka Türü	Hassasiyet	%95 C.I.	Özgüllük	%95 C.I.
Primer Plaka ¹	%100,0 (129/129)	(97,1, 100,0)	%98,5 (134/136)	(94,8, 99,6)
%5 koyun kanıyla Triptik Soy Agar	%99,1 (213/215)	(96,7, 99,8)	%99,2 (237/239)	(97,0, 99,8)
%5 koyun kanıyla Columbia Agar	%98,6 (212/215)	(96,0, 99,5)	%99,2 (237/239)	(97,0, 99,8)
30 µg sefoksitin indüksiyonuyla Mueller Hinton	%99,1 (213/215)	(96,7, 99,8)	%99,6 (238/239)	(97,7, 99,9)

1: Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test, 3 klinik tesisten 2'sinde primer plakalardan yapılmıştır. Primer plakalar ya Triptik Soy Agar ya da Columbia Agar olup iki adet numunede bilinmeyen plaka türü istisnası gerçekleşmiştir.

Analitik Performans










Analitik Reaktiflik ve Özgüllük

162 metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşu ve 112 metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) suşu Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test ile test edilmiş ve beklenen sonuçlar alınmıştır. Bu bakteriyel suşlar, *Staphylococcus aureus* Antimikrobiyal Direnç Ağı (NARSA), American Type Culture Collection (ATCC) (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu) ve Londra'daki Imperial College Bulaşıcı Hastalık Epidemiyoloji Bölümü'nden alınan suş koleksiyonundan elde edilmiştir. Test edilen izolatların Columbia agar plakaları kullanılarak kültürlenmediğini unutmayın. Tüm pozitif ve negatif günlük kontroller beklenen sonuçları oluşturmuştur.

Tekrarlanabilirlik Çalışması

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test çalışması, her bir panel için birer kopyası bulunan negatif ve pozitif numunelerin olduğu kör kodlu numune panelleri kullanılarak 3 ayrı tesiste yapılmıştır. Katılımcıların her biri 5 farklı günde birer panel test etmiştir. Beklenen test sonuçlarıyla %100,0 (600/600) uyum görülmüştür. Çalışma içerisinde (eşler bir operatör tarafından test edilmiştir), çalışmalar arasında (5 farklı gün), tesisler arasında (3 tesis), veya operatörler arasında (6 operatör) hiçbir önemli farklılık görülmüştür. Test edilen izolatların Columbia agar plakaları kullanılarak kültürlenmediğini unutmayın. Tüm pozitif ve negatif günlük kontroller beklenen sonuçları oluşturmuştur.

Semboller

		
Kullanma talimatlarına başvurun	Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi	<i>In vitro</i> tanısal tıbbi cihaz
		
Katalog numarası	CE İşareti	Üretici
		
Sıcaklık sınırlaması	Tehlike Piktogramı. Bkz. önlemler.	Kit içerisinde 25 test için yeterli materyal bulunur
		
Tekrar kullanmayın	Parti kodu	Son kullanma tarihi

Sipariş ve İletişim Bilgileri

893-000 Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test

ABD: 1 877 441 7440

ABD Dışı için: +1 321 441 7200

Teknik Destek

Tavsiye Hattı

Daha fazla bilgiye yerel distribütörünüzden veya aşağıdaki adresten Alere™ Teknik Destek ile irtibata geçerek ulaşabilirsiniz:

ABD

1-877-866-9341

TS.SCR@alere.com

Afrika, Rusya, BDT

+972 8 9429 683

ARCISproductsupport@alere.com

Asya Pasifik

+61 7 3363 7711

APproductsupport@alere.com

Kanada

+1 800 818 8335

CANproductsupport@alere.com

Avrupa ve Orta Doğu


+44 161 483 9032

EMEpproductsupport@alere.com

Latin Amerika

+57 2 6618797

LApproductsupport@alere.com

 893-000

Referanslar

1. Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Jun; 52(2):113-22.



Alere Scarborough, Inc.
10 Southgate Road
Scarborough, ME 04074
www.alere.com



© 2017 Alere. All rights reserved.

The Alere Logo and Alere are trademarks of the Alere group of companies.

IN893000 Rev. 4 2017/03