

REF SI 1701.0102, SI 1701.0102/L

IVD

20 testů

OBVYKLÉ POUŽITÍ

MM GRAM NEG ID je kvalitativní in vitro diagnostický test určený pro profesionální uživatele v klinických laboratořích k multiplexní identifikaci sekvencí nukleových kyselin specifických pro gram-negativní bakterie. Test se provádí ze vzorku pozitivní hemokultury. Kazeta MM GRAM NEG ID obsahuje všechna potřebná činidla k provedení jednoho testu prostřednictvím multiplexní analýzy RT PCR v kombinaci se systémem MOLECULAR MOUSE SYSTEM.

MM GRAM NEG ID analyzuje následující targety: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Neisseria meningitidis*, *Klebsiella aerogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacteriaceae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli/Shigella* spp., *Salmonella typhi*, *Enterobacter cloacae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp.

MM GRAM NEG ID reportuje výsledek podporující diagnózu infekce krve způsobenou gram-negativními mikroorganismy.

Test MM GRAM NEG ID je určen pro kombinované použití s dalšími klinickými a analytickými výsledky v rámci diagnostického hodnocení definovaného a upraveného každou konkrétní laboratoří. MM GRAM NEG ID nenahrazuje tradiční metody založené na klasické kultivaci. Výsledek nevyklučuje kombinovanou přítomnost jiných targetů než těch, které jsou uvedeny v seznamu identifikovatelných targetů, pro jejichž identifikaci jsou nezbytné další nezávislé testy.

PRINCIP METODY

Kazeta MM GRAM NEG ID je určena výhradně pro použití se systémem MOLECULAR MOUSE SYSTEM (SI 1701.100/I), který umožňuje amplifikaci a detekci specifické nukleové kyseliny pomocí multiplexní polymerázové řetězové reakce v reálném čase (PCR). MOLECULAR MOUSE SYSTEM se skládá z přístroje fungujícího jako termocykler a softwaru již nainstalovaného v počítači, který slouží k provádění testů a sledování výsledků. Pro analýzu je nutné použít jednorázovou kazetu, která obsahuje PCR činidla ve formě lyofilizátu. Specifikace pro provádění testu (včetně seznamu targetů a kritérií pro správu údajů) jsou uvedeny v MM GRAM NEG ID cartridge file. Systém generuje, analyzuje, ukládá a sleduje informace o výsledcích a celý proces trvá přibližně 1 hodinu. Cílem testu je identifikovat specifické sekvence nukleových kyselin gram-negativních bakterií v pozitivní hemokultuře. Jedna testovací kazeta umožňuje analýzu jednoho vzorku. Úplný popis systému naleznete v uživatelské příručce MOLECULAR MOUSE SYSTEM.

POPIS VÝROBKU A SLOŽENÍ

K detekci a identifikaci specifických bakteriálních a plísňových nukleových kyselin u osob, které vykazují příznaky a/nebo symptomy infekce krevního řečiště, lze použít kazety MOLECULAR MOUSE SEPSIS panel.

Výběr nejvhodnější kazety se řídí výsledkem mikroskopie (barvení dle Grama) vzorku pozitivní hemokultury. Pozitivní hemokulturu obsahující gram-negativní bakterie lze testovat pomocí MM GRAM

CE

NEG ID.

Aby bylo vyšetřování kompletní, lze kromě toho v případě potřeby pro doplnění vyšetření použít další kazetu (MM GRAM NEG RES, SI 1701.0101 nebo SI 1701.0101/L) k identifikaci rezistentních genů gram-negativních bakterií.

K dispozici jsou dvě různé konfigurace:

SI 1701.0102:

- 20 jednorázových MM GRAM NEG ID kazet (Ref. G1701.0102) pro analýzu 20 vzorků. Každá kazeta obsahuje všechna potřebná reakční činidla v lyofilizované formě včetně primeru a oligonukleotidových sond, signální amplifikační činidla a kontroly reakce (negativní kontrola a pozitivní kontrola) potřebných pro analýzu jednoho vzorku v jednom běhu pro vygenerování výsledku testu.

Poznámka: kazety není možno prodávat individuálně.

- MM GRAM NEG ID cartridge file obsahující specifikaci testu – již instalován v MOLECULAR MOUSE softwaru dle MOLECULAR MOUSE SYSTEM uživatelské příručky.
- 80 ks štítků pro lepší dohledatelnost vzorku při jeho zpracování a testování.

SI 1701.0102/L:

- 20 x jednorázových MM GRAM NEG ID kazet (Ref. G1701.0102) pro analýzu 20 vzorků. Každá kazeta obsahuje všechna potřebná reakční činidla v lyofilizované formě včetně primeru a oligonukleotidových sond, signální amplifikační činidla a kontroly reakce (negativní kontrola a pozitivní kontrola) potřebných pro analýzu jednoho vzorku v jednom běhu pro vygenerování výsledku testu.

Poznámka: kazety není možno prodávat individuálně.

- 20 x Loading solution pro jednotlivé použití (kat.č. G1701.L02). Vzhledem k různým vlastnostem klinických pozitivních hemokultur je k dispozici roztok "Loading solution" určený pro zpracování vzorků, který se doporučuje použít v posledním kroku zpracování vzorku kvůli optimalizaci reakce.
- MM GRAM NEG ID cartridge file obsahující specifikaci testu – již instalován v MOLECULAR MOUSE softwaru dle MOLECULAR MOUSE SYSTEM uživatelské příručky.
- 60 ks štítků pro lepší dohledatelnost vzorku při jeho zpracování a testování.

POTŘEBNÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL A PŘÍSTROJE**Kompatibilita**

MM GRAM NEG ID kazeta je kompatibilní se vzorky pozitivních hemokultur odebraných z kultivačních nádobek BD BACTEC Plus Aerobic/F, BD BACTEC Anaerobic/F, BD BACTEC Peds Plus/F,

MOL_IFU_SI17010102_MMGRAMNEG_ID_1-6_CS

bioMerieux BACT/ALERT FA Plus, bioMerieux BACT/ALERT FN Plus, bioMerieux BACT/ALERT PF Plus.

MM GRAM NEG ID kazety jsou kompatibilní se MOLECULAR MOUSE SYSTEM a nainstalovaným softwarem verze 1.7.0 nebo vyšší.

Přístroje

- MOLECULAR MOUSE SYSTEM (Ref. SI 1701.100/I) obsahující MOLECULAR MOUSE přístroj a v počítači nainstalovaný software
- MOLECULAR MOUSE přístroj (Ref. SI 1701.900/I)
- Vortex
- Mikrocentrifuga

Spotřební materiál

- Mikro-pipety a špičky (10 µl, 200 µl a 1000 µl) pro molekulární biologii (DNA, nuclease free)
- 1.5 ml mikrokumavky pro centrifugaci v molekulární biologii
- Voda molekulárně biologické kvality
- Jednorázové rukavice
- Osobní ochranné prostředky (OOP)

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST VÝROBKU

Výrobek MM GRAM NEG ID (SI 1701.0102, SI1701.0102/L) uchovávejte při 2-8°C.

MM GRAM NEG ID (SI 1701.0102, SI1701.0102/L) se transportuje při 2-25°C.

Každá kazeta je vakuově balena v modifikované atmosféře.

Kazeta nesmí být zmrazená. Datum spotřeby je vytištěno na všech štítcích produktu.

Pracovní podmínky výrobku jsou pokojová teplota (15-25 °C, vlhkost vzduchu nižší než 60 %).

Před použitím vyjměte kazetu z chladničky a ponechte ji 30 minut při pokojové teplotě v jejím původním jednorázovém obalu. Obal otevřete těsně před použitím; kazetu použijte do 30 minut od otevření obalu.

Kazetu uchovávejte na místě chráněném před přímým světlem a teplem.

Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti.

ODBĚR VZORKU, MANIPULACE A SKLADOVÁNÍ

Výrobek MM GRAM NEG ID musí být použitý pro testování gram-negativních bakterií z pozitivních hemokultur. Materiál pro odběr a transport vzorku není součástí dodávky tohoto výrobku. Pozitivní hemokultury musí být skladovány při pokojové teplotě (15 °C-25 °C) a zpracovány do 1 dne od chvíle zjištění positivity. Zpracovaný vzorek musí být uchováván při teplotě -20 °C nebo nižší po dobu maximálně 7 dnů.

V případě potřeby skladování pelet, než přistoupíte k resuspenzi (viz kapitola Příprava vzorku), uchovávejte je max. 7 dnů -20°C.

Objem vzorku: 200 µl pozitivní hemokultury obsahující gram-negativní bakterie, zpracované podle pokynů v kapitole "Příprava vzorku".

Celkem 30 µl zpracovaného vzorku musí být rozděleno do šesti jamek kazety MM GRAM NEG ID (5 µl do každé jamky), což umožní analýzu 1 vzorku v jednom cyklu s jednou kazetou.

Doba analýzy: přibližně 1 hodina.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Návod k použití a uživatelskou příručku MOLECULAR MOUSE SYSTEM (SI 1701.100/I) je třeba si před použitím přečíst v plném rozsahu, abyste se seznámili s pracovními postupy, příkazy a bezpečnostními opatřeními pro správné a bezpečné používání.
- V případě chybějících nebo poškozených částí zařízení se před použitím obraťte na výrobce.
- Uživatel pracující s MM GRAM NEG ID musí důsledně dodržovat pokyny uvedené v návodu k použití. Výrobce neodpovídá za nesprávné použití výrobku: v případě nesprávného použití není zajištěna funkčnost, výkon a bezpečnost výrobku. Pokud je výrobek používán způsobem, který výrobce neurčil, může dojít k narušení ochrany poskytované výrobkem.
- Návod k použití musí být zachován, úplný a čitelný ve všech svých částech a měl by být uživateli při používání zařízení kdykoli přístupný. Před použitím zkontrolujte, zda jsou splněny všechny bezpečnostní požadavky uvedené v návodu k použití.
- Neodstraňujte z kazety žádný štítek. Štítky musí být vždy čitelné. Dbejte na to, aby bylo označení kompletní a nepoškozené.
- Neotevírejte uzavřený obal ani posuvné sklíčko kazety dříve, než jste připraveni provést test. Kazetu použijte do 30 minut od otevření originálního obalu.
- Dbejte na to, aby byl originální obal úplný a nepoškozený.
- Ujistěte se, že použití výrobku je v interiéru.
- Kazeta musí být chráněna před světlem a skladována ve tmě. Fluorescenční barviva obsažená v lyofilizovaném koláči jsou citlivá na světlo. Dlouhodobé vystavení světlu může ovlivnit fluorescenční signál, a tím i výsledek testu.
- Nepoužívejte kazetu po uplynutí doby použitelnosti, která je uvedena na jeho originálním obalu.
- Nedotýkejte se vnitřních prvků ani dna kazety. Jakékoli poškození dna a vnitřní části může nenávratně ovlivnit funkčnost kazet.
- S kazetou netřepejte.
- Nepoužívejte kazety, které jste upustili.
- NEPOKOUŠEJTE se otevírat kryt přístroje ručně, jinak může dojít k mechanickému poškození. Kryt je motorizovaný, proto se musí otevírat/zavírat pouze prostřednictvím softwarového rozhraní, pokud je připojeno k softwaru, nebo prostřednictvím dotykového tlačítka přístroje, pokud není připojeno k softwaru.
- Otevírání krytu přístroje je deaktivováno, pokud probíhá analýza. Nepokoušejte se v průběhu analýzy otevírat kryt přístroje ručně.
- Používání kazet je kompatibilní pouze s přístrojem a softwarem MOLECULAR MOUSE, který obsahuje uživatelské rozhraní navržené tak, aby minimalizovalo chyby při používání a v případě chyb zabránilo vydání výsledku testu. Software zobrazuje varování v případě nekompatibilitních/neplatných, prošlých, poškozených a již použitých kazet.
- S výrobkem je třeba zacházet opatrně, vyvarovat se požití, vdechnutí, kontaktu s očima, kůží a oděvem.
- Dbejte na to, aby se na kazetu nevyliily žádné kapaliny nebo látky.
- Dbejte na to, abyste kazetu používali pouze s vyhrazeným příslušenstvím/zařízením.

- Před zahájením testu se ujistěte, že je do softwaru MOLECULAR MOUSE nahrán konkrétní cartridge file.
 - Umístěte zařízení do správné polohy a vyhněte se zdrojům tepla/přímého slunce, zdrojům vibrací a elektromagnetickým zdrojům, aby byla zajištěna správná funkce.
 - Zajistěte, aby byl na stole dostatečný volný prostor pro přístroj, aby byla zajištěna jeho správná funkce.
 - Dbejte na správné a opatrné vložení kazety do přístroje a nenechávejte nic, co by mohlo bránit uzavření víka přístroje.
 - Dodržujte doporučené podmínky prostředí pro použití kazety. Po otevření uzavřeného obalu se může lyofilizovaná kazeta znovu hydratovat při vlhkosti > 60 %. Při vkládání kazety do přístroje musí mít kazeta pokojovou teplotu. Vložení kazety při jiné než pokojové teplotě může ovlivnit kalibraci kazety a výsledky testu.
 - Pro přípravu vzorků a pro cyklování používejte oddělené čisté prostory. Používejte pouze činidla, která neobsahují látky rušící PCR, nukleové kyseliny a nukleázy.
 - Při manipulaci s kazetou a vzorkem pracujte v čistém prostoru bez kontaminantů, interferujících látek, nukleových kyselin a nukleáz.
 - Používejte špičky a zkumavky bez nukleáz a nukleových kyselin. Pro přípravu a vkládání vzorku(ů) používejte kalibrované mikropipety a špičky pro mikropipety s filtry.
 - Ujistěte se, že byly provedeny všechny kontroly nezbytné pro správnou funkci zařízení.
 - Neprovádějte analýzu v případě, že je vzorek hemokultury v rozbité, poškozené nebo netěsné lahvičce/zkumavce.
 - Biohazard. V závislosti na použitých vzorcích na kazetě považujte výrobek za potenciálně infikovaný a použijte veškerá bezpečnostní opatření a varování, abyste zabránili kontaktu. Při práci s biologickým nebezpečím používejte vhodné metody dekontaminace a likvidace odpadu.
Kazeta může obsahovat potenciálně infekční materiál; se systémem je proto třeba zacházet jako s potenciálně infekčním. Je proto nezbytné přijmout veškerá bezpečnostní opatření a varování, aby se zabránilo kontaktu (povinné používání rukavic a brýlí při manipulaci) v souladu s místními právními předpisy. Nesprávná manipulace s infikovanými částmi může způsobit podráždění kůže.
Biologické vzorky, jako jsou tkáň, tělní tekutiny, infekční agens, krev lidí nebo jiných zvířat, mají potenciál přenášet infekční choroby. Veškerá práce by měla být prováděna v řádně vybavených zařízeních za použití vhodného bezpečnostního vybavení (například veškerých fyzických ochranných prostředků, včetně rukavic, pláště, bot, návleků na obuv, ochranných brýlí, obličejových štítů a masek). Mezi zpracováním každého vzorku si vyměňte rukavice.
Před prací s potenciálně biologicky nebezpečnými materiály by měly být osoby proškoleny podle platných regulačních předpisů a požadavků společnosti/instituce.
Dodržujte všechny platné místní, státní/provinční a/nebo národní předpisy.
 - Obecné zacházení s chemickými látkami. Pro minimalizaci rizik zajistěte, aby si pracovníci laboratoře přečetli a dodržovali obecné bezpečnostní pokyny pro používání, skladování a nakládání s chemickými látkami, které poskytuje výrobce chemikálií, a aby si prostudovali příslušné bezpečnostní listy (SDS), kde jsou uvedena konkrétní bezpečnostní opatření a pokyny:
 - Než začnete skladovat, manipulovat nebo pracovat s jakýmikoliv chemickými látkami nebo nebezpečnými materiály, přečtěte si bezpečnostní listy dodané výrobcem chemikálií a porozumějte jim. Chcete-li získat bezpečnostní listy, obraťte se na výrobce chemických látek.
 - Minimalizujte kontakt s chemickými látkami. Při manipulaci s chemickými látkami používejte vhodné osobní ochranné prostředky (například ochranné brýle, rukavice nebo ochranný oděv).
 - Minimalizujte vdechování chemických látek. Nenechávejte nádoby s chemikáliemi otevřené. Používejte pouze při odpovídajícím větrání (například digestoř).
 - Pravidelně kontrolujte, zda nedošlo k úniku nebo rozliti chemikálií. Dojde-li k úniku nebo rozliti, postupujte podle postupů výrobce při čištění, jak je doporučeno v bezpečnostních listech.
 - S chemickým odpadem manipulujte v digestoři. Zajistěte, aby byl odpad skladován, přenášen, přepravován a likvidován v souladu se všemi místními, státními/provinčními a/nebo národními předpisy.
 - **DŮLEŽITÉ!** Na nebezpečné materiály se mohou vztahovat speciální požadavky na zacházení s nimi a jejich likvidaci
 - Před použitím uchovávejte všechny části výrobku (v případě SI 1701.0102/L obě části, kazetu i zkumavku s roztokem Loading solution) po dobu 30 minut při pokojové teplotě v jednorázovém originálním obalu. V případě SI 1701.0102/L musí být všechny části výrobku (G1701.0102 a G1701.L02) ze stejné šarže SI 1701.0102/L.
 - Kazeta se smí používat pouze s kompatibilním softwarem a přístrojem. V opačném případě společnost Alifax neodpovídá za bezpečnost, spolehlivost a výkony výrobku.
 - Kazety jsou jednorázové a nelze je znovu použít. Nepoužívejte již použitou kazetu nebo kazetu s únikem kapaliny.
 - Profesionální použití. Toto zařízení není určeno pro použití osobami se sníženými fyzickými, mentálními a smyslovými schopnostmi nebo s nedostatkem zkušeností a znalostí, pokud jim osoba odpovědná za jejich bezpečnost neposkytlá dohled nebo předběžné pokyny k používání analyzátoru.
 - Pro zaručení správné přípravy vzorku je nezbytné používat vodu molekulárně biologické kvality. Použití jiných činidel než těch, která jsou uvedena v návodu k použití, ohrožuje přípravu vzorku a zhoršuje výsledky testu.
- ## POSTUP
- ### Příprava vzorku
- Poznámka: Ujistěte se, že je mikrocentrifuga nastavena v g (g-force nebo rcf- Relative Centrifugal Force); převod g/rpm viz příloha II.**
1. Vezměte 200 µl vzorku pozitivní hemokultury a přeneste ji do 1,5 ml zkumavky. Zkumavku centrifugujte při 500 x g po dobu 1 min.
 2. Přeneste horní fázi (supernatant) do nové 1,5 ml zkumavky a centrifugujte při 5000 x g po dobu 1 min.
 3. Nyní supernatant zlikvidujte.
Poznámka: Pokud potřebujete peletu skladovat, prosím před resuspendováním uchovávejte maximálně 7 dnů při -20°C.
 4. Peletu resuspendujte v 1000 µl vody molekulárně biologické kvality a 10 sekund vortexujte, abyste suspenzi homogenizovali. Kapky na víčku z něj odstraníte rotací zkumavky při maximální rychlosti po dobu 5 sekund.
- 5a. SI 1701.0102 konfigurace:

Vezměte 100 µl resuspenze a přeneste tento objem do nové zkumavky. Přidejte 900 µl vody molekulárně biologické kvality a 10 sekund vortexujte. Kapky na víčku z něj odstraníte rotací zkumavky při maximální rychlosti po dobu 5 sekund.

5b. SI 1701.0102/L konfigurace:

Vezměte 100 µl resuspenze a přeneste tento objem do zkumavky s Loading Solution (Ref. G1701.L02), která obsahuje 900 µl roztoku a 10 sekund vortexujte. Kapky na víčku z něj odstraníte rotací zkumavky při maximální rychlosti po dobu 5 sekund.

6. Takto zpracovaný vzorek je připravený pro inokulaci příslušné kazety.

7. Do každé jamky kazety MM GRAM NEG ID musíte napipetovat 5 µl zpracovaného vzorku (celkem 30 µl), umožníte analýzu 1 vzorku v 1 běhu s 1 kazetou.

MOLECULAR MOUSE Analýza

V této části jsou uvedeny základní kroky spuštění testu. Podrobné pokyny naleznete v uživatelské příručce MOLECULAR MOUSE SYSTEM.

Poznámka: Před použitím uchovávejte všechny součásti výrobku (v případě SI 1701.0102/L obě součásti, kazetu i zkumavku s Loading Solution) po dobu 30 minut při pokojové teplotě v originálním jednorázovém obalu.

1. Zapněte počítač a spusťte software MOLECULAR MOUSE poklepáním na ikonu zástupce na pracovní ploše.

2. Přihlaste se do softwaru MOLECULAR MOUSE software pomocí uživatelského jména a hesla.


3. Zapněte přístroj MOLECULAR MOUSE.

V rozhraní softwaru - v poli přístroje - se zobrazí informace týkající se stavu přístroje ("Přístroj připojen; Prosim vložte kazetu" - bílá barva).
Poznámka: zkontrolujte, zda byl cartridge file nahrán do softwaru (část Nastavení/Správa kazety).

Poznámka: zkontrolujte, zda je v přístroji aktivní provádění testů (oddíl Nastavení/Správa přístroje).

4. Vyjměte jednu kazetu MM GRAM NEG ID z originálního obalu.

Poznámka: Kazetu použijte do 30 minut po vyjmutí z originálního jednorázového obalu.

5. Stisknutím tlačítka "otevřít/zavřít kryt"  v poli přístroje otevřete kryt a vložte kazetu do přístroje.

Spustí se kontrola kazety (fialová barva). Během kontroly se víko přístroje automaticky zavře. Počkejte, dokud nebude kazeta kalibrována a zkontrolována (stav se změní na "Kazeta zkontrolována; Pro pokračování stiskněte start" - zelená barva). Kalibrace trvá několik minut.

6. Pokračujte stisknutím tlačítka "Start" a po přihlášení přejděte na obrazovku "Nastavení testu" (žlutá barva).

V každé 1 kazetě lze analyzovat maximálně 1 vzorek. Ve výchozím nastavení je pro test vybrán vzorek.

Poznámka: aby bylo možné pokračovat, musí být vloženo alespoň 1 ID vzorku a typ vzorku.

7. Vložte informace o vzorku pomocí čtečky čárových kódů/klávesnice

nebo ze systému LIS.

8. Z rozbíjecí nabídky vyberte "Typ vzorku".

9. Pro pokračování stiskněte tlačítko "Nakapejte vzorky".

Zobrazí se "vyskakovací okno s upozorněním": „Pokud bude nakapání vzorku trvat déle než 10 minut nemůže být garantována správná funkčnost kazety“.

Poznámka: na vyskakovacím okně s varováním může uživatel zvolit, aby se toto varování v budoucnu nezobrazovalo.

10. Pro pokračování stiskněte tlačítko "OK".

Kryt přístroje se automaticky otevře.

11. Vyjměte kazetu z přístroje a položte ji na vyhrazený pracovní stůl/skříňku.

12. Vložte kazetu do držáku kazety a otevřete posuvné sklíčko.

13. Vyjměte kazetu z držáku kazety.

14. Do každé jamky nakapejte 5 µl zpracovaného vzorku k resuspenzi lyofilizovaných činidel. Poté posuvné sklíčko zavřete.

Poznámka: Do jedné kazety lze vložit maximálně jeden zpracovaný vzorek.

Celkem se do kazety nakape 30 µl vzorku (5 µl do každé jamky).

Poznámka: Po nakapání každé jednotlivé jamky vyměňte špičku.

15. Znovu opatrně vložte kazetu do přístroje.

16. Stiskněte tlačítko "Zavřete kryt a spusťte".

Zobrazí se "vyskakovací okno s upozorněním": "Jste si jisti že všechny vzorky byly nakapány do jamek?"

17. Ujistěte se, že jsou nakapány všechny vzorky, a pokračujte stisknutím tlačítka "Ano, jsem si jist".

Zobrazí se vyskakovací okno "Přihlášení".

Poznámka: Pokud byla překročena doporučená doba pro nakapání vzorků, zobrazí se po potvrzení varování uživatele o nakapání všech vzorků vyskakovací okno, ale analýzu lze přesto dokončit.

18. Pro pokračování se přihlaste.

Kryt přístroje se automaticky zavře. Zavře se obrazovka "Nastavení testu" a otevře se obrazovka "Domů" nejprve se zobrazeným stavem "Inicializace" (světle modrá barva) a poté se zobrazením "V běhu" (modrá barva).

Test se spustí.

Přibližně za hodinu je test dokončen a stav se změní na "Dokončeno; Prosim vyjměte kazetu" (bílé světlo).

Výsledky zobrazíte stisknutím tlačítka "Zobrazit výsledky". Výsledky targetů jsou znázorněny v tabulce spolu s amplifikační křivkou jako Přítomný/Chybí/Malá spolehlivost/Invalidní.

Vyberte targety k verifikaci a stiskněte tlačítko "Verifikace" a poté (pokud je aktivováno) vyberte targety k validaci a stiskněte tlačítko "Validace", abyste mohli přejít na stránku s hlášením a vygenerovat zprávu.

19. Stisknutím tlačítka otevřít/zavřít kryt otevřete kryt přístroje a vyjměte kazetu.

Poznámka: Na konci každého běhu počkejte 5 minut - dokud se nezastaví ventilátor přístroje - před otevřením víka a vyjmutím použité kazety, aby vnitřní část přístroje dosáhla pokojové teploty.

Použitá kazeta by měla být zlikvidována v příslušných nádobách na

vzorky podle standardních postupů vaší instituce.

Přístroj MOLECULAR MOUSE je připraven k novému testu.

Poznámka: Jedna kazeta umožňuje analyzovat 1 vzorek v jednom běhu a získat výsledek testu. Až 6 přístrojů lze spravovat paralelně nezávislým způsobem, s jednou instancí softwaru, což umožňuje analýzu 6 kazet současně, tedy 6 vzorků najednou.

KVALITATIVNÍ KONTROLY

Každá testovací kazeta obsahuje dvě procesní kontroly:

1. Pozitivní kontrola detekuje přítomnost jakékoli inhibice analýzy PCR v reálném čase (související se vzorkem), zajišťuje, že podmínky PCR reakce (teploty a čas) jsou správné pro amplifikační reakci a že PCR čidla jsou funkční.

Pozitivní kontrola je platná, pokud splňuje schválená kritéria přijatelnosti.

2. Negativní kontrola verifikuje nepřítomnost nespecifické amplifikace během analýzy.

Všechny kontrolní testy jsou před vydáním výsledků testu prověřeny. Pokud negativní kontrola a/nebo pozitivní kontrola neprojdou, považují se výsledky vzorku za neplatné a test se opakuje.

V případě potřeby lze hemokultivační médium naočkovat certifikovaným referenčním bakteriálním kmenem pro jeden z targetů (nedodává se s MM GRAM NEG ID) a použít jej jako externí pozitivní kontrolní vzorek. V případě, že není k dispozici takovýto hemokultivační vzorek, je možné použít kolonie již identifikované bakterie nebo certifikovaný referenční kmen vykultivovaný na vhodném pevném kultivačním médiu.

Příprava kontrolního vzorku z kolonie: naberte čistou kolonii 1 µl sterilní bakteriologickou kličkou, rozpustte ji v 1000 µl vody molekulárně biologické kvality a 10 sekund vortexujte, aby byl roztok homogenní. Kapky na víčku z něj odstraníte rotací zkumavky při maximální rychlosti po dobu 5 sekund. Takto zpracovaný vzorek je připraven k vložení do určené kazety (5 µl do každé jamky).

Pozor: jako externí kontrolní vzorek použijte čistý certifikovaný nebo správně identifikovaný kmen, a vyhněte se jakékoli kontaminaci, která by mohla znehodnotit nebo zkusit získané výsledky.

Pozor: Výsledky testu získané pomocí externích pozitivních kontrolních vzorků nelze použít k diagnostickým účelům. Diagnostický test je určen výhradně k použití s pozitivní hemokulturou (viz určené použití přístroje).

Certifikované referenční kmeny, které lze použít jako externí pozitivní kontrolní vzorky, jsou uvedeny v následující tabulce:

MM GRAM NEG ID SPECIFICKÝ TARGET	REFERENČNÍ CERTIFIKOVANÝ KMEN/VZOREK*
<i>Salmonella typhi</i>	S. typhi CECT 409
<i>Neisseria meningitidis</i>	N. meningitidis serogroup A**
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	S. maltophilia ATCC 51331
<i>Haemophilus influenzae</i>	H. influenzae ATCC 10211
<i>Proteus mirabilis</i>	P. mirabilis ATCC 7002
<i>Proteus spp.</i>	P. mirabilis ATCC 7002
<i>Klebsiella oxytoca</i>	K. oxytoca NCTC 10417
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K. pneumoniae ATCC BAA 2146
<i>Enterobacteriaceae</i>	K. pneumoniae ATCC BAA 2146
<i>Acinetobacter baumannii</i>	A. baumannii ATCC 49466
<i>Enterobacter cloacae</i>	E. cloacae ATCC BAA 1143
<i>Escherichia coli/ Shigella spp.</i>	E. coli NCTC 13476/ S. flexneri ATCC 12022
<i>Serratia marcescens</i>	S. marcescens ATCC 43861
<i>Klebsiella aerogenes</i>	K. aerogenes NCTC 10102
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P. aeruginosa ATCC BAA 1744

* Informace o bezpečném zacházení se vzorkem naleznete v pokynech výrobce
**Z bezpečnostních důvodů byl tento kmen testován s komerčně dostupnou extrahovanou DNA (AMPLIRUN® code MBC036).

VÝSLEDKY

Software MOLECULAR MOUSE zpracovává surová data získaná z přístroje za účelem identifikace přítomnosti/nepřítomnosti targetů nukleových kyselin, poskytuje výsledky a vygeneruje zprávu po verifikaci uživatelem a, pokud je aktivováno, validaci dat uživatelem.

Specifikace pro provedení testu (včetně seznamu targetů a kritérií pro správu údajů) jsou uvedeny v MM GRAM NEG ID cartridge file. Software je schopen analyzovat fluorescenci vyzařovanou specifickými sondami a podle zvýšení hodnoty fluorescence je target indikován jako přítomný/nepřítomný/malá spolehlivost/invalidní, jak je uvedeno v tabulce níže, a je vizualizován v amplifikačním grafu jako logaritmická/lineární amplifikační křivka. **Spolu s výsledky, které poskytuje MM GRAM NEG ID (cílové výsledky), jsou dostupné publikované podpůrné informace vztahující se k cílovým bakteriálním druhům poskytovány stisknutím tlačítka**

(pokyn EUCAST[8]). Veškeré podpůrné informace v nich obsažené jsou poskytovány "tak, jak jsou", bez záruky úplnosti, přesnosti, aktuálnosti, pokud jde o použití těchto informací, a bez jakékoli záruky, výslovné či předpokládané. Společnost Alifax s.r.l. nenese žádnou odpovědnost za kvalitu, obsah nebo úplnost informací, textů a odkazů obsažených v citovaných podpůrných informacích. Podpůrné informace se navíc vymykají zamýšlenému použití zařízení a nejsou nezbytné pro bezpečné a správné používání zařízení.

Target -výsledek	Pozitivní kontrola	Negativní kontrola	Popis výsledku
Přítomný	Prošlo	Prošlo	Target přítomný
Malá spolehlivost (žádné další targety přítomny)	Prošlo	Prošlo	Neprůkazný*
Malá spolehlivost (alespoň 1 target přítomný)	Prošlo	Prošlo	Neprůkazný**

Chybí	Prošlo	Prošlo	Target nepřítomný
Invalidní	Neprošlo	Prošlo	INVALIDNÍ***
Invalidní	Prošlo	Neprošlo	INVALIDNÍ****

*Zopakujte test od zpracovaného vzorku. Pokud výsledek zůstane stejný, proveďte znovu zpracování vzorku z pozitivní hemokultury (pokud je vzorek pozitivní) a vložte nově zpracovaný vzorek do určené kazety.

V případě malé spolehlivosti je pro výsledek užitečné vyhodnocení křivky interpretace. Amplifikační křivky mají sigmoidální (S) tvar.

**Zohledněte klinické hodnocení. V případě potřeby zopakujte analýzu od zpracovaného vzorku.

V případě malé spolehlivosti je pro výsledek užitečné vyhodnocení křivky interpretace. Amplifikační křivky mají sigmoidální (S) tvar.

***Přítomnost inhibitorů. Zřeďte 500 µl zpracovaného vzorku 500 µl vody molekulárně biologické kvality a opakujte test takto zředěného vzorku. Pokud výsledek zůstane stejný, zopakujte zpracování vzorku z pozitivní hemokultury (pokud je to možné) a nově zpracovaný vzorek vložte do určené kazety.

****Absence inhibitorů. Ujistěte se, že jste vzorek načetli a zpracovali podle návodu k použití (IFU). V případě pochybností se doporučuje zopakovat zpracování vzorku z pozitivní hemokultury (pokud je to možné) a nově zpracovaný vzorek vložit do určené kazety.

Seznam targetů:

Specifické targety: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Neisseria meningitidis*, *Klebsiella aerogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter cloacae**, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*.

Generické targety: *Enterobacteriaceae*, *Proteus spp.*, *Shigella spp.*

**Enterobacter cloacae* sada primeru rozezná jak *E.cloacae*, tak *E.hormaechei*, nejčastější specíes *Enterobacter cloacae* komplexu izolované z humánních klinických vzorků.

Možné kombinace výsledků v MM GRAM NEG ID kazetě jsou uvedeny níže, rozdělení mikroorganismů rozeznatelných (on panel) a nerozeznatelných (off panel). Více podrobností je uvedeno v Příloze I.

Target	Specifický target	Generický target	Výsledek
Mikroorganismus			
On panel Gram-negativní bakterie	+	+	Detekce sekvence nukleové kyseliny specifické pro gramnegativní bakterie tj. ESCHERICHIA COLI
	+	-	Escherichia coli/Shigella spp. Přítomný
	-	+	Enterobacteriaceae Přítomný

Off-panel mikroorganismus	-	-	Žádná detekce sekvencí nukleových kyselin specifických pro kmen MM GRAM NEG ID.
---------------------------	---	---	---

MM GRAM NEG ID poskytuje výsledek jako podpora diagnostiky infekce krevního řečiště způsobené gram-negativními bakteriemi.

Test MM GRAM NEG ID je určen ke kombinovanému použití s dalšími klinickými a analytickými výsledky v rámci diagnostického hodnocení definovaného a upraveného každou konkrétní laboratoří. MM GRAM NEG ID nenahrazuje tradiční metody klasické kultivace.

Výsledek nevyklučuje kombinovanou přítomnost jiných targetů než těch, které jsou uvedeny na seznamu identifikovatelných targetů. Pro jejich identifikaci je nutné provést další nezávislé testy. Použití kontrol v každé analýze testů umožňuje ověřit správné fungování amplifikační směsi a nepřítomnost interferencí.

LIMITACE PROCEDURY

Vzorky musí být odebírány, přepravovány a skladovány použitím správných postupů a za vhodných podmínek. Nesprávný odběr, transport, nebo skladování vzorků může omezit schopnost testu detekovat cílové sekvence.

MM GRAM NEG ID kazety jsou kompatibilní se vzorky pozitivních hemokultur odebraných z kultivačních nádobek BD BACTEC Plus Aerobic/F, BD BACTEC Anaerobic/F, BD BACTEC Peds Plus/F, bioMerieux BACT/ALERT FA Plus, bioMerieux BACT/ALERT FN Plus, bioMerieux BACT/ALERT PF Plus.

Amplifikace nukleových kyselin z klinických vzorků musí být prováděna podle specifických metod uvedených v tomto postupu.

Falešně negativní výsledky mohou vzniknout v důsledku:

- o Nesprávného odběru a zpracování vzorku
- o Degradace DNA během přepravy/skladování
- o Použití nedoporučeného roztoku pro zpracování vzorků
- o Přítomnosti inhibitorů PCR
- o Mutací v bakteriálním genomu
- o Varianty genu, která není kazetou detekovatelná
- o Nedodržení návodu k použití (IFU)

Falešně pozitivní výsledky mohou vzniknout v důsledku:

- o Křížové kontaminace při manipulaci se vzorkem nebo jeho přípravě
- o Křížové kontaminace mezi vzorky pacientů
- o Záměny vzorků
- o Kontaminace DNA při manipulaci s výrobkem

Vliv vakcín, antivirových terapeutik, antibiotik, chemoterapeutik nebo imunosupresiv nebyl zjištěn.

Účinnost prostředku nebyla stanovena pro screening krve nebo krevních produktů.

Negativní výsledky nevyklučují infekci způsobenou gram-negativními bakteriemi a neměly by být jediným základem pro rozhodnutí o léčbě pacienta.

Pozitivní výsledek indikuje detekci nukleové kyseliny jednoho

z targetových genů, které jsou oblastí zájmu.

Nukleová kyselina může přetrvávat i poté, co bakterie již není životaschopná.

Laboratoře jsou povinny hlásit všechny pozitivní výsledky příslušným orgánům veřejného zdraví.

ANALYTICKÁ VÝKONNOST

Analytická sensitivita

Pro každý bakteriální cíl byl determinován limit detekce (LoD), aby se demonstrovalo, že gen mikroorganismu byl detekován v minimálně 95 % replikátů.

Limit detekce pro všechny targety obsažené v MM GRAM NEG ID kazetě je uveden v následující tabulce.

MM GRAM NEG ID Target	Testovaný organismus	Číslo kmenu	LoD koncentrace
Salmonella typhi	Salmonella Typhi DNA	Vircell - AMPLIRUN® MBC044	7,2x10 ¹ copies/μL
Neisseria meningitidis	Neisseria meningitidis SG A DNA	Vircell - AMPLIRUN® MBC036	6,8x10 ¹ copies/μL
Stenotrophomonas maltophilia	Stenotrophomonas maltophilia	ATCC 51331	3,3x10 ⁵ CFU/ml
Haemophilus influenzae	Haemophilus influenzae	ATCC 10211	8,8x10 ⁵ CFU/ml
Proteus mirabilis	Proteus mirabilis	ATCC 7002	1,1x10 ⁵ CFU/ml
Proteus spp	Proteus mirabilis	ATCC 7002	2,8x10 ⁶ CFU/ml
Klebsiella oxytoca	Klebsiella oxytoca	ATCC 43863	7,0x10 ⁵ CFU/ml
Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae	ATCC BAA-2814	4x10 ⁵ CFU/ml
	Klebsiella oxytoca	ATCC 43863	7,0x10 ⁵ CFU/ml
	Klebsiella pneumoniae	ATCC BAA-2814	4x10 ⁵ CFU/ml
	Enterobacter cloacae	ATCC BAA-2341	1,4x10 ⁵ CFU/ml
	Escherichia coli	NCTC 13476	2,7x10 ⁵ CFU/ml
	Shigella flexneri	ATCC 12022	2,1x10 ⁵ CFU/ml
	Klebsiella aerogenes	ATCC 35029	7,6x10 ⁵ CFU/ml
Acinetobacter baumannii	Acinetobacter baumannii	NCTC 13424	4,7x10 ⁵ CFU/ml
Enterobacter cloacae	Enterobacter cloacae	ATCC BAA-2341	1,4x10 ⁵ CFU/ml
	Escherichia coli	NCTC 13476	1,4x10 ⁶ CFU/ml
Escherichia coli/Shigella spp.	Shigella flexneri	ATCC 12022	2,1x10 ⁵ CFU/ml
	Serratia marcescens	ATCC 43861	1,9x10 ⁶ CFU/ml
Klebsiella aerogenes	Klebsiella aerogenes	ATCC 35029	7,6x10 ⁵ CFU/ml
Pseudomonas aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	1,0x10 ⁶ CFU/ml

Poznámka: průměrná koncentrace bakterií, která se může vyskytovat v pozitivní hemokultuře je přibližně 10⁸ CFU/ml. [6,7]

Analytická specifita

Cílem studie specifity je vyhodnotit schopnost MM GRAM NEG ID kazety identifikovat pouze požadované targety (**inkluzivita**), vyhodnotit potenciální křížovou reaktivitu mikroorganismů on-panel a off-panel testy (**exkluzivita**) a otestovat potenciální inhibiční účinky interferujících látek/mikrobiálních činidel/kultivačních médií (**interference**).

Provedené experimenty ukazují, že MM GRAM NEG ID kazeta je specifická pro kmeny* gram-negativních bakterií a nevykazuje křížovou reaktivitu.

*V analytické vyhodnocovací studii nebyl jeden kmen Klebsiella oxytoca (1/11) amplifikován sadou primeru Klebsiella oxytoca. V klinické vyhodnocovací studii bylo všech 22 klinických kmenů Klebsiella oxytoca oxytoca správně rozeznáno specifickou sadou primeru se 100% dosažením shody s očekávanými výsledky.

In silico analýza specifity zarovnání sekvencí provedená s generickými targety Enterobacteriaceae a Proteus spp. testu MM GRAM NEG ID je reportována v tabulce níže.

In silico výsledky analýzy pro target Enterobacteriaceae

Detekce předpovězená pomocí úplného zarovnání sekvencí	
Salmonella sp.	Klebsiella pneumoniae
Salmonella enterica	Klebsiella pneumoniae NCTC 9157
Salmonella enterica NCTC 9948	Klebsiella pneumoniae NCTC 9171
Salmonella enterica NCTC 10436	Klebsiella pneumoniae NCTC 11698
Salmonella enterica subsp. houtenae	Klebsiella pneumoniae NCTC 11359
Salmonella enterica subsp. houtenae NCTC 7318	Klebsiella pneumoniae NCTC 9793
Salmonella enterica subsp. diarizonae	Klebsiella pneumoniae NCTC 10317
Salmonella enterica subsp. diarizonae NCTC 10381	Klebsiella pneumoniae NCTC 418
Salmonella enterica subsp. salamae	Klebsiella pneumoniae NCTC 9667
Salmonella enterica subsp. salamae NCTC 9930	Klebsiella pneumoniae ATCC BAA-2146
Salmonella enterica subsp. enterica	Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae
Salmonella enterica subsp. Enterica NCTC 9684	Klebsiella aerogenes
Salmonella enterica subsp. enterica NCTC 7836	Klebsiella aerogenes NCTC 10006
Salmonella enterica subsp. enterica NCTC 5741	Klebsiella aerogenes NCTC 9735
Salmonella enterica subsp. enterica NCTC 9787	Klebsiella aerogenes NCTC 9644
Salmonella enterica subsp. enterica NCTC 9872	Klebsiella aerogenes NCTC 9652
Salmonella enterica subsp. enterica NCTC 6480	Klebsiella quasivariicola
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi	Klebsiella africana
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium	Enterobacter cloacae complex sp.
Salmonella bongori	Enterobacter sp.
Salmonella bongori strain NCTC 12419	Enterobacter hormaechei
Citrobacter sp.	Enterobacter hormaechei NCTC 11571
Citrobacter freundii	Enterobacter hormaechei NCTC 9394
Citrobacter freundii ATCC 8090	Enterobacter cloacae
Citrobacter freundii NCTC 9750	Enterobacter cloacae subsp. cloacae ATCC 13047
Citrobacter koseri	Enterobacter kobei
Citrobacter koseri NCTC 11075	Enterobacter ludwigii
Citrobacter koseri ATCC BAA-895	Enterobacter asburiae
Citrobacter portucalensis	Enterobacter asburiae ATCC 35953
Citrobacter portucalensis NCTC 11104	Enterobacter cancerogenus
Citrobacter braakii	Enterobacter roggkampii
Citrobacter telavivensis	Enterobacter sichuanensis
Citrobacter werkmanii	Enterobacter chengduensis

Citrobacter rodentium	Enterobacter bugandensis
Citrobacter tructae	Enterobacter mori
Citrobacter pasteurii	Enterobacter oligotrophicus
Citrobacter youngae NCTC 13709	Enterobacter chuandaensis
Citrobacter amalonicus	Enterobacter vonholyi
Citrobacter farmeri	Enterobacter dykesii
Citrobacter europaeus	Raoultella terrigena
Citrobacter pasteurii	Raoultella terrigena NCTC 9189
Citrobacter cronae	Raoultella terrigena strain NCTC 13098
Pseudocitrobacter sp.	Raoultella terrigena strain NCTC 9997
Leclercia sp.	Lelliottia sp.
Leclercia adecarboxylata	Lelliottia jeotgali
Leclercia adecarboxylata NCTC 13032	Yokenella regensburgei
Předpokládaná detekce s ≤ 3 sekvenčními neshodami	
Escherichia coli	Escherichia fergusonii ATCC 35471
Escherichia coli ATCC 51435	Escherichia fergusonii ATCC 35473
Escherichia coli NCTC 9113	Escherichia fergusonii ATCC 35470
Escherichia coli NCTC 9041	Escherichia marmotae NCTC 11133
Escherichia coli NCTC 9702	Escherichia marmotae NCTC 8196
Escherichia coli NCTC 9100	Shigella boydii
Escherichia coli NCTC 9044	Shigella flexneri
Escherichia coli NCTC 9022	Shigella sonnei
Escherichia coli NCTC 8623	Shigella dysenteriae
Escherichia coli NCTC 9087	Klebsiella oxytoca
Escherichia coli NCTC 9699	Klebsiella oxytoca NCTC 11356
Escherichia coli NCTC 9088	Klebsiella oxytoca NCTC 13727
Escherichia coli NCTC 9054	Klebsiella oxytoca NCTC 11355
Escherichia coli NCTC 11129	Klebsiella michiganensis
Escherichia coli NCTC 11113	Klebsiella grimontii
Escherichia coli NCTC 11121	Klebsiella pasteurii
Escherichia coli NCTC 11476	Klebsiella variicola
Escherichia coli NCTC 10430	Raoultella ornithinolytica
Escherichia coli NCTC 9967	Raoultella ornithinolytica NCTC 8846
Escherichia coli NCTC 11023	Raoultella planticola
Escherichia coli NCTC 9966	Kosakonia radincincans strain DSM 107547
Escherichia fergusonii	Kosakonia arachidis strain KACC 18508
Předpokládaná detekce s > 3 neshodami v cílové sekvenci *	
/	/

On-panel Enterobacteriaceae je vyznačen tučně.

*Více jak 3 neshody snižují účinnost PCR a mohou vést k nulové detekci sekvenovaného targetu.

In silico výsledky analýzy pro target Proteus spp.

Detekce předpovězená pomocí úplného zarovnání sekvencí	
Proteus mirabilis	Proteus terrae subsp. Cibarius
Proteus mirabilis NCTC 4199	Proteus columbae
Proteus mirabilis ATCC 7002	Proteus alimentorum
Proteus mirabilis ATCC 29906	Proteus penneri
Proteus mirabilis NCTC 60	Proteus penneri NCTC 12737
Proteus vulgaris	Proteus penneri ATCC 33519
Proteus vulgaris NCTC 13145	Proteus penneri ATCC 35198
Proteus vulgaris NCTC 10376	Proteus myxofaciens ATCC 19692
Proteus vulgaris ATCC 49132	Proteus genomospecies 4 ATCC 51469 (CDC 8385-93 [111B, CCUG 35384])
Proteus vulgaris NCTC 401	Proteus genomospecies 5 ATCC 51470 (CDC 1404-81 [CCUG 35385, HSCT 3586 T1])
Proteus terrae	Proteus genomospecies 6 ATCC 51471 (CDC 8390-93 [87B, CCUG 35381])
Předpokládaná detekce s ≤ 3 sekvenčními neshodami	
Proteus mirabilis CCUG 70746	Proteus faecis
Proteus hauseri	Proteus cibi
Proteus hauseri ATCC 700826	
Předpokládaná detekce s > 3 neshodami v cílové sekvenci	
/	/

On-panel Proteus species je vyznačen tučně.

*Více jak 3 neshody snižují účinnost PCR a mohou vést k nulové detekci sekvenovaného targetu.

Interferující látky:

Potenciální interference 13 různých látek byla posouzena testováním simulované pozitivní hemokultury s příměsí Escherichia coli (NCTC 13476). Všechny interferenty byly přidány do vzorku v koncentraci rovné nebo vyšší, než je nejvyšší očekávaná hladina v hemokultuře.

Testované látky (endogenní látky, antikoagulanty a dezinfekční prostředky), jejich testovací koncentrace a získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Potencionálně interferující látky

Endogenní látky	Koncentrace	Výsledky
Hemoglobin	1000 mg/dl	NEBYLA POZOROVÁNA ŽÁDNÁ INTERFERENCE
Triglyceridy	100 mg/dl	
Konjugovaný bilirubin	40 mg/dl	
Nekonjugovaný bilirubin	40 mg/dl	
Gamma globulin	20mg/ml	

human genomic DNA	6 x 10 ⁵ cp/mL	NEBYLA POZOROVÁNA ŽÁDNÁ INTERFERENCE
Antikoagulanty	Koncentrace	
Citrát sodný	4x poměr specifický pro vacutainer (antikoagulans:krev)	
K2EDTA		
K3EDTA		
Lithium Heparin		
Sodium Heparin		
Dezinfekce	Koncentrace	
Bělicí prostředek	5% v/v	
Etanol	7% v/v	

cp/ml = kopie/ml; v/v = objem /objem

Žádná z potenciálně interferujících látek neovlivnila výsledky testu MM GRAM NEG ID (nebyla pozorována žádná interference).

Mikrobiální interference:

Mikrobiální interference byla hodnocena testováním simulované hemokultury s nízkou koncentrací *Klebsiella pneumoniae* (ATCC BAA-2146) a 6 klinicky významných koinfekčních organismů přidaných do vzorku ve vysoké koncentraci. Mikroorganismy byly vybrány z těch, které byly identifikovány jako běžné polymikrobiální koinfekce, aby se vyhodnotilo, zda by přítomnost vysokých koncentrací organismů mohla interferovat s detekcí deklarovaných cílů při nižší koncentraci.

Potenciálně konkurující mikroorganismy, rozdělené mezi on-panel a off-panel, a získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Potenciálně interferující organismy

On-panel	Výsledky
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13476	NEBYLA POZOROVÁNA ŽÁDNÁ INTERFERENCE
<i>Acinetobacter baumannii</i> NCTC 13424	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC BAA-1744	
Off-panel	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	

Žádný z potenciálně interferujících mikroorganismů nekonkuroval ani neinterferoval s výsledky testu MM GRAM NEG ID (nebyla pozorována žádná interference).

Typy hemokultivačních lahvíček:

Kompatibilita MM GRAM NEG ID s různými lahvíčkami a médii pro kultivaci krve byla hodnocena testováním 6 různých lahvíček pro kultivaci krve ze 2 různých systémů pro kultivaci krve (BACT/ALERT a BACTEC); lahvíčky pro kultivaci krve byly osazeny 5 nejčastěji se vyskytujícími gramnegativními bakteriemi (1 bakterie na každý typ lahvíčky) a inkubovány pro dosažení positivity.

Testované typy lahví a získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Interference s hemokultivačními lahvíčkami

Typ hemokultivační lahvíčky	Výsledky
BD BACTEC Plus Aerobic/F	NEBYLA POZOROVÁNA ŽÁDNÁ INTERFERENCE
BD BACTEC Plus Anaerobic/F	
BD BACTEC Peds Plus /F	
bioMerieux BACT/ALERT® FA Plus	
bioMerieux BACT/ALERT® FN Plus	
bioMerieux BACT/ALERT® PF Plus	

Žádná z testovaných hemokultivačních lahvíček neinterferovala s výsledky testu MM GRAM NEG ID (nebyla pozorována žádná interference).

Celkově nebyla zjištěna žádná interference s endogenními látkami, antikoagulanty nebo dezinfekčními prostředky, stejně jako u polymikrobiálních vzorků a typů lahví.

Přesnost měření

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost MM GRAM NEG ID byla hodnocena testováním 6 simulovaných pozitivních hemokultur, do kterých bylo přidáno 5 nejčastěji klinicky se vyskytujícími gramnegativními bakteriemi a 1 mikroorganismem off-panel (grampozitivní bakterie jako negativní kontrola).

Byly hodnoceny různé potenciální zdroje variability. Podrobněji byla studie provedena na 2 různých pracovištích, v různých dnech, se 2 šaržemi kazet (2 různé šarže/pracoviště), s různými přístroji, různými operátory (2 různí operátoři/pracoviště); každý vzorek byl testován v 5 opakováních na šarži/pracoviště (celkem 20 opakování/vzorek, 6 vzorků = 120 celkových analýz).

Shoda mezi výsledky získanými z nezávislých testů byla analyzována jako procento shody mezi testy provedenými za různých podmínek; pro zjištěnou procentní shodu byla vypočtena 95% hranice spolehlivosti (Wilson metoda) (viz tabulka níže).

Mikroorganismus	Pracoviště 1		Pracoviště 2		Celková shoda [95% CI]
	Lot 1 Op1-2	Lot 2 Op1-2	Lot 1 Op3-4	Lot 2 Op3-4	
<i>E. coli</i> NCTC 13476	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>K. pneumoniae</i> ATCC BAA-2814	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>P. mirabilis</i> NCTC 10975	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>E. cloacae</i> ATCC BAA-2341	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>P. aeruginosa</i> ATCC BAA-1744	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>Staphylococcus</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20

120/120
100%
[96,9%-100%]

MOL_IFU_SI17010102_MMGRAMNEG_ID_1-6_CS

epidermidis ATCC 12228 (off-panel, negativní kontrola)	100%	100%	100%	100%	100% [83,9%- 100%]
---	------	------	------	------	--------------------------

Lot= Šarže, Op=Operátor, CI=interval spolehlivosti

Ve všech 120 provedených analýzách dosáhly všechny testy 100% shody.

KLINICKÁ VÝKONNOST

Klinická výkonnost MM GRAM NEG ID kazety byla vyhodnocena během klinické studie s 529 hemokulturami (165 prospektivních, 158 retrospektivních a 206 naočkovaných) včetně 18 polymikrobiálních hemokultur. Vzhledem k přítomnosti polymikrobiálních hemokultur byl konečný počet testovaných species 547.

Výkonnostní charakteristiky byly vyhodnoceny porovnáním výsledku testu s kazetou MM GRAM NEG ID s matricově asistovanou laserovou desorpční/ionizací (MALDI) jako referenční metodou a v případě nesouhlasných výsledků s diagnostickou srovnávací metodou Real-Time PCR.

Target	Sensitivita (TP/TP+FN)			Specifita (TN/TN+FP)		
	N	%	95% CI	N	%	95% CI
S. typhi	21/21	100	84,54 100	506/506	100	99,25 100
N. meningitidis	5/5	100	56,55 100	523/523	100	99,27 100
S. maltophilia	12/12	100	75,75 100	516/516	100	99,26 100
H. influenzae	23/23	100	85,69 100	503/503	100	99,24 100
P. mirabilis	32/32	100	89,28 100	492/495	99,39	98,23 99,79
Proteus spp.	36/38	94,74	82,71 98,54	490/490	100	99,22 100
K. oxytoca	22/22	100	85,13 100	506/506	100	99,25 100
K. pneumoniae	48/51	94,12	84,08 97,98	476/476	100	99,2 100
Enterobacterales	266/270	98,52	96,25 99,42	257/257	100	98,53 100
A. baumannii	23/23	100	85,69 100	505/505	100	99,25 100
E. cloacae	34/36	94,44	81,86 98,46	488/488	100	99,22 100
E. coli/Shigella spp.	114/114	100	96,74 100	413/414	99,76	98,64 99,96
S. marcescens	28/31	90,32	75,10 96,65	497/497	100	99,23 100
K. aerogenes	24/26	92,31	75,86 97,86	502/502	100	99,24 100
P. aeruginosa	43/46	93,48	82,50 97,76	482/482	100	99,21 100

Pravidivě pozitivní (TP); Pravidivě negativní (TN); Falešně pozitivní (FP); Falešně negativní (FN); Interval spolehlivosti (CI).

LIKVIDACE ODPADU

Likvidace odpadu by měla být v souladu s platnými národními právními předpisy. S ohledem na typ výrobku se navrhuje nakládat s ním jako s biologickým odpadem (kód E.W.C. 18.01.03).

INDEX SYMBOLŮ

	CE značka
	In vitro diagnostický (IVD) prostředek
	Katalogové číslo
	Počet testů
	Teplotní limit
	Nepoužívejte opakovaně
	Číslo šarže
	Chraňte před slunečním svitem
	Datum spotřeby
	Návod k použití
	Obsah
	Touto stranou nahoru
	Pozor, přečtěte si návod k použití
	Výrobce
	Vyrobeno v Itálii
	Ponechte touto stranou nahoru (horizontálně)

Kontakty na technickou podporu

Kontaktujte místního obchodního zástupce společnosti Alifax nebo autorizovaného distributora.

Kontakt pro hlášení stížností

Jakákoli **závažná událost**, k níž dojde v souvislosti s prostředkem, musí být hlášena výrobci (vigilance@alifax.com) a příslušnému orgánu členského státu, v němž se uživatel a/nebo pacient nachází. „Závažnou událostí“ se rozumí jakákoli událost, která přímo nebo nepřímo vedla, mohla vést nebo může vést k některé z následujících událostí:

- úmrtí pacienta, uživatele nebo jiné osoby,
- dočasné nebo trvalé vážné zhoršení zdravotního stavu pacienta, uživatele nebo jiné osoby,
- vážné ohrožení veřejného zdraví.

BIBLIOGRAPHY

- [1] "Global report on the epidemiology and burden of sepsis: current evidence, identifying gaps and future directions", World Health Organization (WHO), 2020.
- [2] "Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022", World Health Organization (WHO), 2022.
- [3] "Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual epidemiological report for 2021", ECDC 2022
- [4] "Gram-negative bloodstream infections and sepsis: risk factors, screening tools and surveillance", E. Mitchell et al. British medical bulletin, 2019
- [5] "Approach to Positive Blood Cultures in the Hospitalized Patient: A Review", H. K. Chela et al. Missouri Medicine, 2019.
- [6] "Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting", M. Christner et al., J Clin Microbiol, 2010.
- [7] "Early identification of microorganisms in blood culture prior to the detection of a positive signal in the BACTEC FX system using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry", M.C. Wang et al., J Microbiol Immunol Infect., 2015
- [8] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Expected Resistant Phenotypes Version 1.2, January 2023-
https://www.eucast.org/expert_rules_and_expected_phenotypes

Části označené modrou barvou byly oproti předchozí verzi doplněny nebo upraveny.

Příloha I

MOŽNÉ VÝSLEDKY TESTŮ

Kazeta MM GRAM NEG ID obsahuje činidla pro detekci 15 targetů a 2 procesní kontroly. Následující schéma uvádí příklady dostupných asociací mezi výstupem targetů testu MM GRAM NEG ID (přítomný/chybí) a přítomností odpovídající nukleové kyseliny mikroorganismu.

Target Mikroorganismus	S. typhi	N. mening.	S. maltop.	H. influen.	P. mirabil.	Proteus spp*	K. oxyt.**	K. pne.***	Enterobacteriaceae*	A. baum.	E. cloacae	E. Coli/Shigella spp****	S. marces.	K. aerog.	P. aerug.
Salmonella typhi	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Neisseria meningitidis	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Stenotrophomonas maltophilia	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Haemophilus influenzae	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Proteus mirabilis	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Klebsiella oxytoca	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Klebsiella pneumoniae	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Acinetobacter baumannii	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Enterobacter cloacae	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Enterobacter hormaechei	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Escherichia Coli	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí
Shigella spp.	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí
Serratia marcescens	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
Klebsiella aerogenes	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí
Pseudomonas aeruginosa	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný
Enterobacteriaceae	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
Proteus spp.	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí

*Generické cíle (Enterobacteriaceae/Proteus spp.) nemusí detekovat všechny příbuzné druhy/kmeny z důvodu nedokonalého zarovnání sekvencí cílových nukleových kyselin; viz předpověď in silico pro tento cíl v odstavci "Analytická specifita" tohoto dokumentu.

** Cílová skupina K. oxytoca může být podle analýzy in silico přítomna v případě vzorku obsahujícího K. grimontii a K. michiganensis.

***Target K. pneumoniae je specifický pro druh K. pneumoniae a v případě vzorku obsahujícího jiné druhy komplexu K. pneumoniae (K. quasipneumoniae, K. variicola, K. quasivariicola) není přítomen.

****E. coli/Shigella spp. target může být výsledek přítomen v případě vzorku obsahujícího Shigella spp., protože při analýze in silico bylo pozorováno úplné zarovnání sekvencí.

Příloha II

PŘEVOD G/RPM

V případě, že přístroj nemá automatickou funkci přepínání mezi otáčkami za minutu (otáčky za minutu) a g ("rcf" relativní odstředivá síla nebo síla "g" představující relativní odstředivou sílu generovanou rotujícím rotorem), je možné vypočítat hodnotu "otáček za minutu" od hodnoty "g" podle následující rovnice*:

$$rpm = \sqrt{\frac{g}{0.00001118 * r}}$$

r = poloměr otáčení (cm). Představuje vzdálenost mezi středem otáčení a vnějším okrajem rotoru. Tato hodnota je specifická pro každý rotor a obvykle ji najdete v návodu k odstředivce nebo rotoru.

*Ref. DIN 58 970

Níže jsou uvedeny příklady převodu mezi otáčkami za minutu a g/rcf pro různé poloměry otáčení:

Poloměr rotoru (cm)	otáček za minutu odpovídajících 500 x g	otáček za minutu odpovídajících 5000 x g
4	3344	10574
4,5	3153	9969
5	2991	9458
5,5	2852	9017
6	2730	8634
6,5	2623	8295
7	2528	7993
7,5	2442	7722
8	2364	7477
8,5	2294	7254
9	2229	7049
9,5	2170	6861
10	2115	6688



NÁVOD K POUŽITÍ

MM GRAM NEG ID

CS

Ed. Rev. 1.6 2024-05-23

Tato stránka je záměrně ponechána prázdná

MOL_IFU_SI17010102_MMGRAMNEG_ID_1-6_CS



ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

Str 14 / 14

© Copyright 2024. This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l., confidential and not freely disclosable. All rights reserved

DIPGT01201Ed. 1 rev.
1