

REF SI 1701.0103, SI 1701.0103/L

IVD

20 testů

CE

OBVYKLÉ POUŽITÍ

MM GRAM POS STAPH je kvalitativní in vitro diagnostický test určený pro profesionální uživatele v klinických laboratořích k multiplexní identifikaci sekvencí nukleových kyselin specifických pro gram-pozitivní Staphylococci a/nebo sekvencí nukleových kyselin spojených s rezistencí na meticilin a vankomycin. Test se provádí ze vzorku pozitivní hemokultury. Kazeta MM GRAM POS STAPH obsahuje všechna potřebná činidla k provedení jednoho testu prostřednictvím multiplexní analýzy RT PCR v kombinaci se systémem MOLECULAR MOUSE SYSTEM.

MM GRAM POS STAPH analyzuje následující targety: Staphylococcus spp, S. aureus, S. epidermidis, S. haemolyticus, S. lugdunensis, S. sciuri, S. hominis, S. simulans, S. saprophyticus, S. xylosus, mecA, mecC, SCCmec-orfX, vanA and vanB. Negativní výsledek mecA, mecC, SCCmec-orfX, vanA a vanB targetů nevyklučuje jiné mechanismy rezistence.

MM GRAM POS STAPH poskytuje výsledek podporující diagnózu infekce krve způsobenou gram-pozitivními Staphylococci mikroorganismy a/nebo rezistenci na meticilin a vankomycin.

Test MM GRAM POS STAPH je určen pro kombinované použití s dalšími klinickými a analytickými výsledky v rámci diagnostického hodnocení definovaného a upraveného každou konkrétní laboratoří. MM GRAM POS STAPH nenahrazuje tradiční metody založené kultivací a testu citlivosti na antibiotika. 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 POS STAPH 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 POS STAPH 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-pozitivních Staphylococci a/nebo sekvence nukleových kyselin spojené s rezistencí na meticilin a vankomycin. Test se provádí z pozitivní hemokultury obsahující gram-pozitivní bakterie. 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-pozitivní bakterie lze testovat pomocí MM GRAM POS STAPH.

Aby bylo vyšetřování kompletní, lze kromě toho v případě potřeby pro doplnění vyšetření použít další kazetu (MM GRAM POS NO STAPH, SI 1701.0104 nebo SI 1701.0104/L) k detekci přítomnosti gram-pozitivních bakterií jiných než Staphylococci a určení jejich rezistence na vankomycin.

K dispozici jsou dvě různé konfigurace zařízení:

SI 1701.0103:

- 20 jednorázových MM GRAM POS STAPH kazet (Ref. G1701.0103) 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 POS STAPH 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 1701.0103/L:

- 20 x jednorázových MM GRAM POS STAPH kazet (Ref. G1701.0103) 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 (Ref. G1701.L03). 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 POS STAPH 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.

POTŘEBNÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL A PŘÍSTROJE

Kompatibilita

MM GRAM POS STAPH 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, bioMerieux BACT/ALERT FA Plus, bioMerieux BACT/ALERT FN Plus, bioMerieux BACT/ALERT PF Plus.

MM GRAM POS STAPH kazety jsou kompatibilní se MOLECULAR MOUSE SYSTEM a nainstalovaným softwaru 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 mikrozkušavky pro centrifugaci v molekulární biologii
- Voda molekulárně biologické kvality
- Jednorázové rukavice
- Osobní ochranné prostředky (OOP)

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST VÝROBKU

Výrobek MM GRAM POS STAPH (SI 1701.0103, SI1701.0103/L) uchovávejte při 2-8°C. MM GRAM POS STAPH (SI 1701.0103, SI1701.0103/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 POS STAPH musí být použitý pro testování gram-pozitivních 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-pozitivní bakterie, zpracované podle pokynů v kapitole "Příprava vzorku".

Celkem 30 µl zpracovaného vzorku musí být rozděleno do šesti jamek kazety MM GRAM POS STAPH (5 µl do každé jamky), což umožňuje 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 POS STAPH 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 netřeptejte.
- 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 nekompatibilních/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 uzavřené 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 jakýmkoliv 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 1701.0103/L obě části, kazetu i zkumavku s roztokem Loading solution) po dobu 30 minut při pokojové teplotě v jednorázovém originálním obalu. V případě SI 1701.0103/L musí být všechny části výrobku (G1701.0103 a G1701.L03) ze stejné šarže SI 1701.0103/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 výsledek 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 jej 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 1701.0103 konfigurace:

Vezměte 500 µl resuspenze a přeneste tento objem do nové zkumavky. Přidejte 500 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 1701.0103/L konfigurace:

Vezměte 500 µl resuspenze a přeneste tento objem do zkumavky s Loading Solution (Ref. G1701.L03), která obsahuje 500 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 POS STAPH 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 1701.0103/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; Prosím 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 POS STAPH 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 ID (číslo) vzorku a typ vzorku.

7. Vložte informace o vzorku pomocí čtečky čárových kódů/klávesnice nebo ze systému LIS.

8. Z rozbalovací nabídky vyberte "Typ vzorku".

9. Pro pokračování stiskněte tlačítka "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 tlačítka "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 napipetujte 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 nakapete 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 tlačítka "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; prosím 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 vhodné 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 POS STAPH) 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 zkreslit 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 a diagnostických testů).

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

MM GRAM POS STAPH REFERENČNÍ CERTIFIKOVANÝ KMEN* SPECIFICKÝ TARGET

S. hominis	Staphylococcus hominis ATCC 27844
S. epidermidis	Staphylococcus epidermidis ATCC 14990
vanA	Enterococcus faecium ATCC 700221
vanB	Enterococcus faecalis ATCC 51299
S. haemolyticus	Staphylococcus haemolyticus ATCC 29970
S. sciuri	Staphylococcus sciuri ATCC 29061
S. simulans	Staphylococcus simulans ATCC 27851
S. aureus	Staphylococcus aureus ATCC 700699
mecA	Staphylococcus aureus ATCC 700699
mecC	Staphylococcus aureus NCTC 13552
S. lugdunensis	Staphylococcus lugdunensis ATCC 49576
S. saprophyticus	Staphylococcus saprophyticus ATCC 15305
S. xyloso	Staphylococcus xyloso ATCC 29971
SCCmec-OrfX	Staphylococcus aureus NCTC 13552

* Informace o bezpečném zacházení se vzorkem naleznete v pokynech výrobce

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 POS STAPH 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.

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. Zředte 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 načteli 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: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus xylosus*.

Generické targety: *Staphylococcus* spp.

Targety genů rezistence: *mecA*, *mecC*, *vanA*, *vanB*.

Targety související s rezistencí: *SCCmec-orfX*.

SCCmec-orfX se zaměřuje na stafylokokový kazetový chromozom *mec* (*SCCmec*) obsahující gen *mecA/C* a gen *orfX*; tento další cíl je specifický pro detekci meticilin rezistentního *Staphylococcus aureus* (MRSA) a umožňuje rozlišit MRSA vs. MSSA v polymikrobiálních vzorcích obsahujících jak *S.aureus*, tak koagulázově negativní stafylokoky (CoNS).

Možné kombinace výsledků v MM GRAM POS STAPH 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	Gen rezistence	Výsledek
Mikroorganismus				
On panel <i>Staphylococcus</i>	+	+	+/-	Detekce sekvence nukleové kyseliny specifické pro kmen <i>Staphylococcus</i> . tj. METICILLIN RESISTANT <i>S.EPIDERMIDIS</i> : <i>Staphylococcus</i> spp Přítomný <i>S. epidermidis</i> Přítomný <i>MecA</i> Přítomný
	+	-		
	-	+		
Off panel jiné než <i>Staphylococcus</i>	-	-	+/-	Sekvence nukleových kyselin specifické pro kmen MM GRAM POS STAPH nebyly zjištěny. Gen rezistence lze detekovat i u mikroorganismů off panel.

MM GRAM POS STAPH poskytuje výsledek jako podpora diagnostiky infekce krevního řečiště způsobené gram-pozitivními *Staphylococci* a/nebo průkaz rezistence na meticilin a vankomycin.

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

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 POS STAPH 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, které nejsou kazetou detekovatelné
- 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 nevylučují infekci způsobenou bakteriemi *Staphylococcus a*/nebo přítomnost sekvencí nukleových kyselin spojených s rezistencí na meticilin nebo vankomycin 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.

Přítomnost targetu genu rezistence MM GRAM POS STAPH nemusí nutně znamenat projevení fenotypu rezistence v kulturačních testech citlivosti na antibiotika.

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

Limit detekce pro všechny targety obsažené v MM GRAM POS STAPH kazetě je uveden v následující tabulce.

MM GRAM POS STAPH Target	Testovaný organismus	Číslo kmenu	LoD koncentrace (CFU/ml)
<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	ATCC 27844	6,45E+05
<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 49134	8,45E+05
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	8,65E+05
	<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 13552	5,35E+05
	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	ATCC 49576	1,79E+06
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 49134	8,45E+05
<i>vanB</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 51299	1,28E+06
<i>vanA</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 700221	5,10E+05
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ATCC 29970	2,95E+05
<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>	ATCC 29061	7,50E+05
<i>Staphylococcus simulans</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>	ATCC 27851	7,75E+05
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	8,65E+05
<i>mecA</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	8,65E+05
<i>mecC</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 13552	5,35E+05
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	ATCC 49576	1,79E+06
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	ATCC 15305	1,38E+06
<i>Staphylococcus xylosum</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i>	ATCC 29971	1,45E+04
SCCmec-orfX	<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 13552	5,35E+05

Poznámka: průměrná koncentrace bakterií, která se může vyskytovat v pozitivní hemokultuře je přibližně 10⁸ CFU/ml. [7,8]

Analytická specifita

Cílem studie specifčnosti je vyhodnotit schopnost MM GRAM POS STAPH 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/kulturačních médií (**interference**).

Provedené experimenty ukazují, že MM GRAM POS STAPH kazeta je specifická pro kmeny *Staphylococcus* a nevykazuje křížovou reaktivitu.

In silico analýza specifčnosti zarovnání sekvencí provedená s generickými targety *Staphylococcus spp.* testu MM GRAM POS STAPH je reportována v tabulce níže.

Detekce předpovězená pomocí úplného zarovnání sekvencí	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Staphylococcus caprae</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Staphylococcus argenteus</i>	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
<i>Staphylococcus schweitzeri</i>	<i>Staphylococcus simiae</i>
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	
Předpokládaná detekce s ≤ 3 sekvencními neshodami v cílové sekvenci*	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i>
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	<i>Staphylococcus agnetis</i>
<i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i>
<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>
<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Staphylococcus nepalensis</i>
<i>Staphylococcus muscae</i>	<i>Staphylococcus lutrae</i>
<i>Staphylococcus succinus</i>	<i>Staphylococcus gallinarum</i>
<i>Staphylococcus lloydii</i>	<i>Staphylococcus auricularis</i>
Předpokládaná detekce s > 3 neshodami v cílové sekvenci*	
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus delphini</i>
<i>Staphylococcus kloosii</i>	<i>Staphylococcus felis</i>
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i>	<i>Staphylococcus debuckii</i>
<i>Staphylococcus simulans</i>	<i>Staphylococcus condimentii</i>
<i>Staphylococcus piscifermentans</i>	<i>Staphylococcus carnosus</i>
<i>Staphylococcus sciuri</i>	

On-panel *Staphylococcus* 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 MRSA (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300). 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 NEBYLA POZOROVÁNA ŽÁDNÁ INTERFERENCE
Hemoglobin	1000 mg/5dl	
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	
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 POS STAPH (nebyla pozorována žádná interference).

Mikrobiální interference:

Mikrobiální interference byla hodnocena testováním simulované hemokultury s nízkou koncentrací MRSA (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300 nebo ATCC 700699 nebo NCTC 13552) 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

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

Potencionálně interferující organismy

On-panel	Výsledky
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	NEBYLA POZOROVÁNA ŽÁDNÁ INTERFERENCE
<i>Staphylococcus hominis</i> NCTC 11320	
Off-panel	
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 700221 VRE	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	

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

Typy hemokultivačních lahvíček:

Kompatibilita MM GRAM POS STAPH 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 7 nejčastěji se vyskytujícími grampozitivními bakteriemi (1 bakterie na každý typ lahvíčky) a inkubovány pro dosažení pozitivity.

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 POS STAPH (nebyla pozorována žádná interference).

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

*V případě přítomnosti polymikrobiálního vzorku obsahujícího mechanismus rezistence vůči meticilinu se navrhuje dodatečné ředění vzorku (500 µl zpracovaného vzorku zředěného 500 µl vody molekulárně biologické kvality).

Přesnost měření

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost MM GRAM POS STAPH byla hodnocena testováním 6 simulovaných pozitivních hemokultur, do kterých bylo přidáno 5 nejčastěji klinicky se vyskytujícími grampozitivních *Staphylococci* a 1 mikroorganismus mimo panel (gramnegativní 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>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 49134	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>Staphylococcus hominis</i> ATCC 27844	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC 29970	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> ATCC 49576	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [83,9%-100%]
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (off-panel, negativní kontrola)	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	20/20 100% [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 POS STAPH kazety byla vyhodnocena během klinické studie s 336 hemokulturami (134 prospektivních, 94 retrospektivních a 108 naočkovanych) včetně 38 polymikrobiálních hemokultur (37 se dvěma species a 1 se třemi species). Vzhledem k přítomnosti polymikrobiálních hemokultur byl konečný počet testovaných species 375.

Výkonnostní charakteristiky byly vyhodnoceny porovnáním výsledku testu s kazetou MM GRAM POS STAPH s matricově asistovanou laserovou desorpční/ionizací (MALDI) a fenotypovým testováním citlivosti 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	
<i>S. hominis</i>	20/20	100	83,9	100	313/314	99,7	98,2	99,9
<i>Staphylococcus spp.</i>	159/169	94,1	89,4	96,7	165/165	100	97,7	100
<i>S. epidermidis</i>	33/34	97,1	85,1	99,5	299/299	100	98,7	100
vanB	5/5	100	56,5	100	292/292	100	98,7	100
vanA	5/5	100	56,5	100	292/292	100	98,7	100
<i>S. haemolyticus</i>	20/21	95,2	77,3	99,1	312/313	99,7	98,2	99,9
<i>S. sciuri</i>	7/7	100	64,6	100	326/326	100	98,8	100

<i>S. simulans</i>	10/10	100	72,2	100	324/324	100	98,8	100
<i>S. aureus</i>	49/50	98,0	89,5	99,6	284/284	100	98,7	100
mecA	77/77	100	95,2	100	253/256	98,8	96,6	99,6
mecC	9/9	100	70,1	100	324/324	100	98,8	100
<i>S. lugdunensis</i>	22/23	95,8	79,0	99,2	309/309	100	98,8	100
<i>S. saprophyticus</i>	6/6	100	61,0	100	328/328	100	98,8	100
<i>S. xylosus</i>	6/6	100	61,0	100	328/328	100	98,8	100
SCCmec-orfX	21/24	87,5	69,0	95,7	308/308	100	98,8	100

Pravdivě pozitivní (TP); Pravdivě 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:

- (a) úmrtí pacienta, uživatele nebo jiné osoby,
- (b) dočasné nebo trvalé vážné zhoršení zdravotního stavu pacienta, uživatele nebo jiné osoby,
- (c) 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] "Antimicrobial resistance surveillance in Europe", World Health Organization (WHO), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2022.
- [5] "Transferable Vancomycin Resistance in a Community-Associated MRSA Lineage", F. Rossi et al., New England Journal of Medicine, 2014.
- [6] "Approach to Positive Blood Cultures in the Hospitalized Patient: A Review", H. K. Chela et al. Missouri Medicine, 2019.
- [7] "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.
- [8] "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

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

Příloha I

MOŽNÉ VÝSLEDKY TESTŮ

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

Target		Staph. spp*	S. hominis	S. epiderm.	S. sciuri	S. simulans	S. aureus	S. lugdun.	S. saproph.	S. xylosus	S. haemol.	mecA and/or mecC**	vanA and/or vanB**	SCCmec orfX***
Staphylococcus aureus	Meticilin Vankomycin citlivý	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Přítomný
	Vankomycin rezistentní	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí
Staphylococcus hominis	Meticilin citlivý	Přítomný	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Přítomný	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
Staphylococcus epidermidis	Meticilin Vankomycin citlivý	Přítomný	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Přítomný	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
Staphylococcus sciuri****	Meticilin Vankomycin citlivý	Jakýkoli výsledek	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Jakýkoli výsledek	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
Staphylococcus simulans****	Meticilin Vankomycin citlivý	Jakýkoli výsledek	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Jakýkoli výsledek	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
Staphylococcus lugdunensis	Meticilin Vankomycin citlivý	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
Staphylococcus saprophyticus	Meticilin Vankomycin citlivý	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
Staphylococcus xylosus	Meticilin Vankomycin citlivý	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
Staphylococcus haemolyticus	Meticilin Vankomycin citlivý	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Přítomný	Chybí	Chybí
Další Staphylococcus spp*	Meticilin Vankomycin citlivý	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
Off-panel Gram-pozitivní bakterie	Meticilin Vankomycin citlivý	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
	Meticilin rezistentní	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
	Vankomycin rezistentní	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí

* Obecné cíle (Staphylococcus spp.) nemusí detekovat všechny druhy/kmeny stafylokoků z důvodu nedokonalého zarovnání cílových sekvencí nukleových kyselin; viz předpověď in silico pro tento cíl v odstavci "Analytická specifičnost" tohoto dokumentu.

** V případě mikroorganismů rezistentních k metlicilinu/vankomycinu může výsledek chybět, pokud se jedná o jiné typy/mechanismy rezistence k metlicilinu/vankomycinu; v případě mikroorganismů nesoucích příslušné geny rezistence jsou přítomny cíle mecA, mecC, vanA a vanB.

*** Do prosince 2021 bylo identifikováno 14 typů stafylokokových chromozomových kazet mec (SCCmec); cíl SCCmec-OrfX nemusí detekovat všechny typy SCCmec.

****Pro tento mikroorganismus nemusí generický cíl (Staphylococcus spp.) vést k pozitivnímu výsledku; vzorky S. sciuri a S. simulans však mohou být detekovány specifickými cíli on-panel.

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