



URO-QUICK R.A.A. KIT



PRO RYCHLÝ MOČOVÝ TEST REZIDUÁLNÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITY
(RAA) V KOMBINACI SE SOUPRAVOU *URO-QUICK SCREENING KIT* NA
ANALYZÁTORECH *URO-QUICK 60 – URO-QUICK 120 –*
URO 4 – ALFRED 60 - HB&L™ UROQUATTRO

360 TESTŮ V SOUPRAVĚ

REF SI 390.901

IVD pouze pro použití IN VITRO

NÁVOD K POUŽITÍ

M 390.901 rev. 2.91-UK

Účel testu

Cílem testu je detekovat v biologických vzorcích přítomnost antibiotik nebo drog, které mohou inhibovat růst bakterií v kultivačním médiu. Produkt byl konkrétně vyvinut pro použití na analyzátorech *URO-QUICK 60 – URO-QUICK 120 – URO 4 – ALFRED 60 - HB&L™ UROQUATTRO*.

Úvod

Výše uvedené analyzátory umožňují rychlý a spolehlivý test močových kultur.

Detekce RAA v moči představuje užitečný nástroj pro diagnostickou interpretaci kultivačního testu a pro určení léčby. RAA pozitivní vzorky obvykle patří pacientům pod antibiotickou léčbou, detekovaná antimikrobiální aktivita může pozměnit výsledek kultivačního testu, a proto musí být brána v potaz.

Ředění vzorku v *URO-QUICK SCREENING* testu je 1:5, tudíž efekt antibiotik je normálně zanedbatelný. Nicméně v přítomnosti vysokých koncentrací antibiotik se může objevit inhibice bakteriálního růstu. Za účelem splnění potřeby spolehlivé detekce možných falešně negativních výsledků byla vyvinuta souprava *URO-QUICK R.A.A. KIT*.

URO-QUICK R.A.A. KIT byl sestaven za účelem detekce přítomnosti RAA současně s realizací *URO-QUICK SCREENING* testu, aby bylo diagnostické vyšetření kompletní.

Princip metody

Výše uvedené analyzátory díky citlivosti technologie rozptýleného světla umožňují provést rychlý kultivační test moči (*URO-QUICK SCREENING KIT* (kat. č. **SI 390.900**)).

Aplikací této technologie na metodu diferenciální kinetiky je možné spojit RAA detekci s testem kultivace moči na výše uvedených analyzátorech.

Jednu lahvičku *URO-QUICK SCREENING* setu a jednu lahvičku *URO-QUICK RAA* setu inokulujeme vzorkem moči a navíc do lahvičky z *URO-QUICK RAA* setu ještě přidáme 0,2 ml suspenze mikroorganismu citlivého na antibiotika (*Staphylococcus epidermidis*), který je součástí setu.

Přístroj porovná růstové kinetiky těchto dvou lahviček, ze kterých pak *URO-QUICK* vypočítá RAA a výsledky vytiskne spolu s výsledky screeningového testu; tímto způsobem je tedy možné získat najednou informace týkající se počtu životaschopných bakterií a residuální antimikrobiální aktivity.

Popis soupravy a jejích komponent

Souprava se skládá z následujících šesti částí:

- **3x balení R.A.A. KULTIVAČNÍCH LAHVIČEK**, každé obsahuje:
 - 120 jednorázových lahviček uzavřených červeným hliníkovým kroužkem, které se vkládají do zásuvky analyzátoru a obsahují 2 ml eugonic bujónu. Lahvičky byly vytvořeny tak, aby zajistily vysokou citlivost optického měření (rozptýlené světlo).
 - 5 blotovacích papírových proužků do inkubačního stojanu analyzátoru.
- **3x balení R.A.A. BAKTERIÁLNÍ REAGENCIE** (kat. č. **SI 190.902**), každé obsahuje:
 - 1 lahvičku s lyofilizovaným mikroorganismem (*Staphylococcus epidermidis*).
 - 1 lahvičku s roztokem pro rekonstituci: 1 lahvička s regeneračním roztokem obsahující cca 6,5 ml eugonic bujónu.
 - 5 lahviček ředícího roztoku: 5 lahviček s ředícím roztokem obsahujícím cca 6,5 ml eugonic bujónu.
 - 15 jednorázových speciálních pipetovacích špiček pro přípravu reagensů.

Eugonic bujón je vodný roztok dehydrovaných práškových kultivačních médií, bez mikrobiální kontaminace. Bezpečnostní list je dostupný na vyžádání.

- **1 kartu MicCARD** pro umožnění provedení 360 R.A.A. testů. Je použitelná pouze u přístrojů s analytickým softwarem pro Windows, jehož verze je 1.3.0 nebo vyšší. Místo toho u přístrojů s předcházející verzí Windows nebo s DOS verzí jedinečný kontrolní kód (check code) se zkombinuje se soupravou *URO-QUICK SCREENING KIT*.

Dostupný materiál, který není součástí setu

- Souprava *URO-QUICK RAA* se musí paralelně provádět s *URO-QUICK SCREENING* testem (kat. č. **390.900**) a přitom používat speciální pipetovací špičky. Provedení RAA je dostupné výběrem konfigurace

- „bakteriální růst + RAA“ v softwaru přístroje. Kontrolní kód uvedený na štítku uvnitř soupravy *URO-QUICK SCREENING KIT* (kat. č. **SI 390.900**) umožní provedení testu.
- Pro pipetování vzorků jsou nezbytné mikropipety (500 µl) kompatibilní se speciálními špičkami (kat. č. **SI 190.813-A**)
 - Pro inokulaci bakteriální suspenze jsou nezbytné mikropipety (200 µl) kompatibilní se speciálními špičkami (kat. č. **SI 190.814-A**)
 - Inkubační stojan pro inokulaci vzorků dodaný s každým přístrojem (kat. č. **SI 190.815-A**).

Upozornění

- Pouze pro profesionální použití při *in vitro* diagnostice.
- Biologické agens, *Staphylococcus epidermidis*, není klasifikován ve třídě 2, 3, 4, takže riziko vyvolání onemocnění u zdravých lidí je nízké. Doporučujeme dodržovat správné bezpečnostní a hygienické profesionální postupy.
- Biologické vzorky, bakteriální kultury musí být brány jako potenciálně infekční a musí s nimi být zacházeno podle vnitrostátních předpisů.
- Nepoužívejte reagentie po datu expirace.
- Nepoužívejte znovu rekonstituované naředěné roztoky po rozmrazení. Vyhodte ty, co případně zůstaly.
- Nepoužívejte reagentie v poškozeném balení.
- Nepoužívejte zakalené lahvičky.
- Zacházejte s lahvičkami opatrně, jsou křehké.
- Nedržte lahvičky souprav pod vytištěnou bílou linkou.

Podmínky uchovávání

- **Balení R.A.A. KULTIVAČNÍCH LAHVIČEK**: lahvičky se musí uchovávat při +4÷30 °C v sadě až do data expirace uvedeného na obalu.
- **Balení R.A.A. BAKTERIÁLNÍ REAGENCIE** (kat. č. **SI 190.902**): Reagentie se musí uchovávat v lednici (+2÷8 °C) až do data expirace uvedeného na obalu.

Příprava a odběr vzorku

Kvalita laboratorního vyhodnocování jakéhokoli vzorku je limitována kvalitou vzorku.

Vzorek odebraný ze středního proudu moči

Vzorek moči se odebírá za aseptických podmínek, aby se tak minimalizovala možnost jeho kontaminace. Počáteční proud moči je vpuštěn do toalety, aby došlo k vyčistění uretry před vlastním odběrem aktuálního středního proudu moči.

Vzorek moči dětí z vaku

Odběr vzorku moči dětí vyžaduje použití sběrného vaku. Tyto vaky jsou notoricky známé falešně pozitivními výsledky způsobenými kontaminací. Kultury z těchto vaků mají význam pouze, jsou-li negativní, nicméně by měly být potvrzeny.

Vzorek ze zavedeného katétru

Vzorky moči pacientů se zavedeným katétreem mohou být asepticky odebrány aspirací moči pomocí jehly, kterou zavedeme do katétru nebo pomocí speciální propichovatelné přepážky, která je součástí sběrných hadiček.

Moč ve sběrném vaku může být kontaminována drenážní výpustí a neměla by být odebírána v místě sběrných trubiček. Je lepší odebrat vzorek moči po výměně katétru, aby se zamezilo rozvoji nesprávné mikrobiální flóry uvnitř. Počítaje s vysokým výskytem pomalu rostoucích bakterií (např. *Pseudomonas*) v takovémto typu močového vzorku se doporučuje analyzovat tyto vzorky pouze pomocí softwaru v režimu „standard mode“ s tím, že délka analýzy nebude kratší než 4 hodiny.

Vzorek moči, který je transportován s konzervačními látkami

Ačkoli takovéto směsi mohou ovlivnit růst organismů, je možno tyto vzorky analyzovat a to pomocí příslušného modulu softwaru (viz. uživatelský manuál přístroje) s tím, že budete postupovat dle pokynů uvedených níže.

Před zpracováním takovýchto vzorků je třeba si u výrobce analyzátoru ověřit, že příslušný konzervant je kompatibilní s přístrojem.

POSTUP

1. Rekonstituce lyofilizovaného bakteriálního kmene

- 1.1. Do lahvičky obsahující lyofilizovanou reagentii přidejte rekonstituční roztok.
- 1.2. Lahvičku uzavřete a jemně protřepejte.
- 1.3. Inkubujte 5-7 hodin při 37 °C.

2. Příprava ředění

2.1 Do každé lahvičky s ředícím roztokem přeneste 1 ml roztoku obsahujícího rekonstituovaný bakteriální kmen. Každá naředěná lahvička postačí pro provedení 30 RAA testů.

2.2. Jestliže naředěný roztok není použit ihned po rekonstituci, je třeba jej uchovávat v mrazničce (-20°C), aby byla zajištěna jeho stabilita. Vzorek lze v mrazničce uchovávat maximálně 30 dnů.

3. Inokulace, vložení a provedení testu

Pokud ředící roztok použijete ihned po rekonstituci, pak postupujte dále podle bodu 3.1. Pokud máte roztok v mrazničce, pak jej nejprve před použitím rozmrazte a ve vodní lázni s termostatem temperujte při teplotě 37°C asi 30 min. nebo v suchém termostatu při 37 °C asi 45 minut.

Vzorky moči se musí inokulovat v co nejkratším čase po odběru (max. za 2 hodiny) a pokud jsou konzervované v lednici při 4 °C tak ne déle než za 4 hodiny. Vzorky odebrané do nádoby s konzervantem se musí zpracovat do 24 hodin.

Před vlastním započítáním analýzy přístroj zkontroluje počet přístupných testů a eventuálně Vás upozorní, pokud počet není dostatečný (viz. uživatelský manuál přístroje).

Vložení testovaných lahvíček:

- **do přístroje s DOS verzí softwaru nebo přístroje s Windows softwarem a verzí nižší než 1.3.0:** Až Vás o to systém požádá, vepište kontrolní kód (check code), který je uvedený na štítku přilepeném vevnitř každého stojánu v soupravě URO-QUICK SCREENING KIT.

- **do přístroje s Windows softwarem a verzí 1.3.0 nebo vyšší:** Až vás o to systém požádá, vložte kartu MicCard pro navýšení dostupnosti testů. Po prvním použití karty MicCard nebude už dále přístroj akceptovat kontrolní kódy.

3.1 Postup zpracování u přístroje URO-QUICK 60 – URO-QUICK 120 – URO 4 - HB&L™ UROQUATTRO

3.1.1 Po napsání čísla vzorku na bílý štítek vložte lahvičky souprav *URO-QUICK SCREENING KIT* a *URO-QUICK R.A.A. KIT* do stojanu do pozic 1-15 a 16-30 respektive.

3.1.2 Umístěte blotovací papírový proužek na místo.

3.1.3 Inokulujte 0,2 ml rekonstituovaného ředícího roztoku do každé z červeně uzavřených lahvíček (pozice 16-30).

3.1.4 Vyměňte blotovací papírový proužek.

3.1.5 Následně inokulujte zeleně uzavřené lahvičky (ze soupravy *URO-QUICK SCREENING KIT*) a odpovídající červeně uzavřené lahvičky (ze soupravy *URO-QUICK R.A.A. KIT*) stejným vzorkem (0,5 ml) s výměnou špičky před zpracováním dalšího vzorku. V případě odběru vzorku moči do nádoby s konzervantem nabírejte 0,2 ml. Zkontrolujte, že jste dosáhli na hladinu označenou na lahvičce.

3.1.6 Zeleně uzavřené lahvičky (ze soupravy *URO-QUICK SCREENING KIT*) budou vloženy do čtecí jednotky do pozic 1 až 30.

3.1.7 Červeně uzavřené lahvičky (ze soupravy *URO-QUICK R.A.A. KIT*) budou vloženy do čtecí jednotky do pozic 31-60.

POZNÁMKA: Inokulované lahvičky musí být vloženy do zásuvky bezprostředně po napipetování, čímž se zabrání nesprávnému spočítání bakterií.

3.1.8 Postup vkládání

Postupujte podle postupu vkládání uvedeného UQ RAA programem:

Screeningové lahvičky	RAA lahvičky
1	31
2	32
atd	atd

V případě odebrání vzorku moči do nádoby s konzervantem postupujte podle specifických instrukcí pro KYSELINU BORITOU.

3.1.9 Pracovní postup

Spusťte provoz dle stejného UQ RAA programu.

3.2 Postup s přístrojem ALFRED 60

3.2.1 Vyberte program pro RAA test.

3.2.2 Vložte prázdné *URO-QUICK* lahvičky do čtecí jednotky během iniciační kontrolní fáze přístroje (viz. uživatelský manuál přístroje). Zeleně uzavřené lahvičky (ze soupravy *URO-QUICK SCREENING KIT*) se vloží do čtecí jednotky do pozic 1 až 30. Červeně uzavřené lahvičky (ze soupravy *URO-QUICK R.A.A. KIT*) se vloží do čtecí jednotky do pozic 31 až 60.

3.2.3 Vložte primární zkumavky se vzorky (max. 30) do vzorkového karuselu.

3.2.4 Vložte lahvičku rekonstituovaného ředícího roztoku do určené pozice.

3.2.5 Inokulace vzorku moči a rekonstituovaného ředícího roztoku je prováděna automaticky přístrojem (viz. uživatelský manuál přístroje).

3.2.6 Pokud je to třeba, nastavte režim pro kyselinu boritou.

3.2.7 Po ukončení analýzy vás přístroj vyzve, abyste lahvičky vyjmuli.

Výsledky

Na konci doby analýzy (2-4 hod.) jsou nahlášeny výsledky jak kultivačního, tak RAA testu.

Příklad tiskového výstupu:

Vzorek č.	Počet životaschopných	R.A.A..	
1	>1EO7CFU/ml	--	(negativní)
2	Negativní	++	(pozitivní)
3	Negativní	+ -	(nejasný)
4	1EO5 CFU/ml	++	(pozitivní)

Další návod viz. uživatelský manuál přístroje.

Kontrola kvality

Pro validaci výsledků RAA testu je možné zkontrolovat růst rekonstituovaného roztoku lyofilizované bakterie *Staphylococcus epidermidis* postupem popsáním v bodě 3, ale s použitím destilované vody místo moče jako vzorku. Minimální očekávaný růst přes 1 000 000 CFU/ml.

Limitace metody

Vysoká hladina hustoty vzorku je systémem hlášena.

Zbytková ATB aktivita je hlášena pro vzorky moče s bakteriálním počtem < 1 000 000 CFU/ml. U vzorku moče s vyšším počtem je jako výchozí hlášena negativní hodnota testu RAA.

Výkonnost

NESMÍŠENÁ MOČ: 225 nativních vzorků moče bylo zpracováno na přístroji ALFRED 60 v referenční mikrobiologické laboratoři s použitím referenční ruční RAA metody na Petriho miskách infikovaných citlivým mikroorganismem (*Bacillus subtilis*). Byly získány následující výsledky:

Citlivost: 86,1 %	Specifičnost: 64,2%
Prediktivní pozitivní hodnota: 71,7%	Prediktivní negativní hodnota: 81,4 %
Účinnost: 75,1 %	

MOČ V KYS. BORITĚ: 367 vzorků moče konzervovaných kys. boritou bylo v referenční mikrobiologické laboratoři analyzováno na analyzátoru ALFRED 60 a porovnáno referenční metodou s použitím ruční RAA metody na Petriho miskách infikovaných citlivým mikroorganismem (*Bacillus subtilis*). Byly získány následující výsledky:

Citlivost: 82,6 %	Specifičnost: 94,2%
Prediktivní pozitivní hodnota: 93,8%	Prediktivní negativní hodnota: 83,6 %
Účinnost: 88,2 %	













Likvidace použitého materiálu

Veškerý použitý materiál musí být likvidován podle dle platných zákonů, nařízení a vyhlášek příslušné země a je třeba dbát nezbytných bezpečnostních opatření pro manipulaci s potenciálně infekčním materiálem.

Reference

1. Manuál klinické mikrobiologie, 8. vydání, ASM Press
2. CUMITECH 2B 1998
3. vyčerpávající bibliografii naleznete při návštěvě webových stránek www.alifax.com

Symbols

Symbol	Význam	Symbol	Význam
	Kat. č.		Nahlédněte do návodu k použití
	Obsah dostačující pro <n> testů		počet lahviček
	Výrobce		Chraň životní prostředí
	Rozmezí teplot		Pozor, viz návod k použití
	Datum expirace		Nepoužívat opakovaně
	Číslo šarže		Biologické riziko

Distributor:**ALIFAX S.p.A.**

via Petrarca, 2/1 – 35020 Polverara (Padova)-Italy

tel. +39 049 0992000

web site: www.alifax.comE-mail: info@alifax.com**Zmocněný zástupce výrobce v České republice:****BioVendor – Laboratorní medicína a.s.**

Tůmova 2265/60

616 00 Brno, Česká republika

IČ: 63471507

poslední revize: 22. září 2013