

Europe + 800 135 79 135 CA 1 855 805 8539

US 1 855 236 0910 ROW +31 20 794 7071

Wellcogen Bacterial Antigen Kit

REF zl26/R30859602[™]30 **|**T

USO PREVISTO

Wellcogen™ Bacterial Antigen Kit fornisce una serie di test rapidi al lattice per la rilevazione qualitativa degli antigeni di Streptococcus gruppo B, Haemophilus influenzae tipo b, Streptococcus pneumoniae (pneumococco), Neisseria meningitidis (meningococco) gruppi A, B, C, Y o W135 ed Escherichia coli K1, presenti nel fluido cerebrospinale (CSF) in seguito a un'infezione. Il kit può essere utilizzato anche per i test di altri fluidi corporei o supernatanti in coltura ematica volti alla rilevazione di gran parte di questi antigeni e colture in piastra per N. meningitidis gruppo B o Escherichia coli K1. (Vedere la Tabella 1 per le indicazioni supportate da dati clinici).

NOTA: I test eseguiti direttamente su campioni clinici hanno finalità di screening e dovrebbero accompagnare, non sostituire, le procedure colturali. I risultati devono essere utilizzati in combinazione con altri dati, per es. sintomi, risultati di altri test, impressioni cliniche ecc.

SOMMARIO

La meningite ha un'ampia varietà di cause potenziali, di origine sia infettiva sia non infettiva. Se non trattata in maniera tempestiva ed efficace, la meningite batterica può risultare fatale. La precoce identificazione dell'agente infettivo può essere di grande utilità per somministrare al paziente un appropriato trattamento chemioterapico. Nella meningite sono implicate molte specie batteriche. Lo Streptococcus gruppo B ed E. coli K1 sono due delle più comuni cause di sepsi neonatale, mentre nei gruppi di età superiore i più comuni isolati sono H. influenzae tipo b, S. pneumoniae e N. meningitidis gruppi A, B, C, Y e W135. Tali organismi veicolano specifici antigeni di polisaccaridi di superficie, una parte dei quali si diffonde in terreni di coltura o fluidi corporei, come fluido cerebrospinale (CFS) o siero, e sono escreti nell'urina. Gli antigeni possono essere rilevati con metodi immunologici sensibili come controimmuno-elettroforesi e agglutinazione al lattice 2,5,6,10 .

PRINCIPIO DEL TEST

I reagenti Wellcogen sono costituiti da particelle di lattice di polistirene, rivestite con anticorpi agli antigeni batterici. Tali particelle di lattice agglutinano in presenza di un antigene omologo sufficiente. I reagenti Streptococcus e H. influenzae sono specifici per il gruppo B e il tipo b, rispettivamente, mentre il reagente S. pneumoniae è sensibilizzato con anticorpi purificati da un siero onnivalente e il reagente polivalente N. meningitidis reagisce con i gruppi A, C, Y e gli antigeni W135. L'antigene di Meningococcus gruppo B è più difficile da rilevare⁶, oltre ad essere strutturalmente e immunologicamente correlato all'antigene di E. coli K1⁷; entrambi reagiscono con il reagente N. meningitidis

DEFINIZIONI DEI SIMBOLI

REF	Numero catalogo
IVD	Dispositivo medico per la diagnostica in vitro
i	Fare riferimento alle Istruzioni per l'uso
1	Limiti di temperatura (temp. di conservazione)
Σ N	Contenuto sufficiente per "n" saggi
LOT	Numero lotto
	Data di scadenza
	Aggiungere acqua
	Prodotto da

CONTENUTO DEL KIT, PREPARAZIONE PER L'USO E CONSERVAZIONE

Wellcogen contiene reagenti in quantità sufficiente per eseguire 30 test.

Vedere anche Precauzioni, sezione 6.

Tutti i componenti dovrebbero essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per mantenere la propria efficacia fino alla data di scadenza del kit.

Prima dell'uso, portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (18 PRECAUZIONI ANALITICHE - 30 °C) e miscelarli Rimettere i reagenti non utilizzati in frigorifero 6.7 dopo l'uso.



Istruzioni per l'uso

Carte reattive monouso (2 confezioni) Bacchette di miscelazione monouso (5 mazzetti) Contagocce monouso (1 flacone) Tettarella in gomma nera (1)

TEST LATEX

Lattici di test

Strep B (tappo rosa)

monoclonale murino.

H. influenzae b (tappo azzurro)

S. pneumoniae (tappo giallo) N. meningitidis ACY W135 (tappo grigio)

N. meningitidis B/E. coli K1 (tappo marrone)

Cinque flaconi contagocce, una specifica per ogni gruppo sopra elencato, contenente sospensioni allo 0,5% di particelle di lattice di polistirene in tampone contenente Bronidox® 0,05% e/o sodio azide 0,1% come conservante. Le particelle di lattice sono rivestite con l'anticorpo di coniglio appropriato, come indicato nell'etichetta, a eccezione del reagente N. meningitidis gruppo B/E. coli K1 che è rivestito con anticorpo

CONTROL LATEX Lattici di controllo

5 flaconi contagocce (tappo blu scuro) contenenti sospensioni allo 0.5% di particelle di lattice di polistirene in tampone conBronidox[®]

0,05% e sodio azide 0,1% come conservante. Le particelle di lattice sono rivestite con una preparazione appropriata di globulina di coniglio o con un anticorpo monoclonale murino diretto contro Bordetella bronchiseptica nel caso del lattice per N. meningitidis gruppo B/E. coli K1.

Le sospensioni di lattice sono fornite pronte per l'uso e dovrebbero essere conservate a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, in posizione verticale, fino alla data di scadenza del kit. Dopo una prolungata conservazione, possono manifestarsi tracce di aggregazione o essiccazione del lattice attorno all'imboccatura del flacone. In tal caso, è opportuno agitare vigorosamente il flacone di lattice per alcuni secondi fino alla completa risospensione. NON CONGELARE.

CONTROL + Controllo positivo polivalente

Due flaconi (tappo blu) contenenti estratti batterici liofilizzati con antigeni di ceppi rappresentativi di ogni specie batterica per cui è fornito il lattice. Contiene bronopol allo 0,01% prima della ricostituzione e allo 0,004% dopo la ricostituzione. Ricostituire utilizzando 3,6 ml di acqua distillata sterile. Dopo l'aggiunta di acqua, lasciare riposare per alcuni minuti quindi ruotare il flacone per miscelarne il contenuto.

Conservare l'antigene ricostituito a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per un periodo fino a 6 mesi.

CONTROL -

Controllo negativo

Un flacone contagocce (tappo bianco) contenente tampone glicina salino con pH 8,2 e Bronidox® 0,05% come conservante.

PRECAUZIONI



I reagenti sono solo per uso diagnostico in vitro.

Solo per uso professionale

Fare riferimento alla scheda tecnica di sicurezza dei materiali (MSDS) e all'etichetta del prodotto per informazioni sui componenti potenzialmente pericolosi.

INFORMAZIONI SU SALUTE E SICUREZZA

- I Lattici di Test e di Controllo per Streptococcus gruppo B, H. influenzae tipo b, S. pneumoniae e N. meningitidis ACY W135, contengono sodio azide 0,1%. Gli azidi possono reagire con il rame e il piombo utilizzati negli impianti idraulici, formando sali esplosivi. Le quantità utilizzate in questo kit sono ridotte; tuttavia, dopo lo smaltimento di materiali contenenti azide, è opportuno lavare gli scarichi con un'abbondante quantità d'acqua.
- In conformità ai principi delle Buone prassi di laboratorio. si raccomanda di trattare i fluidi corporei come potenzialmente infettivi e di maneggiarli con tutte le necessarie precauzioni.
- Nella manipolazione del terreno di coltura ematico con metodo radiometrico, è opportuno seguire le regole di base per la sicurezza delle radiazioni. Tali regole comprendono quanto segue:
 - a) Conservare il materiale radioattivo in un'area designata all'interno di un contenitore approvato.
 - b) Maneggiare il materiale radioattivo in un'area designata.
 - c) Non pipettare con la bocca il materiale radioattivo. d) Non mangiare, bere o fumare nell'area designata.
 - e) Lavare con cura le mani dopo l'uso di materiale
 - f) Per lo smaltimento, consultare il funzionario locale addetto alla sicurezza delle radiazioni
- Dopo l'uso, sterilizzare le attrezzature non monouso con qualunque procedura appropriata, anche se il metodo preferibile è la sterilizzazione in autoclave per 15 minuti a 121°C. I prodotti monouso dovrebbero essere sterilizzati in autoclave o inceneriti. Eventuali fuoriuscite di materiali potenzialmente infettivi dovrebbero essere rimosse immediatamente con carta assorbente, asciugando e trattando le aree contaminate con un disinfettante batterico standard o con alcool al 70%. NON utilizzare ipoclorito di sodio. I materiali utilizzati per pulire eventuali fuoriuscite di materiali, compresi i guanti, dovrebbero essere smaltiti come rifiuti a rischio biologico.
- Non pipettare con la bocca. Indossare guanti monouso e protezioni oculari quando si maneggiano campioni e si eseguono i test. Lavare con cura le mani al termine delle
- Se utilizzati in conformità ai principi delle buona prassi di laboratorio, ai corretti standard di igiene del lavoro e alle indicazioni fornite nelle presenti Istruzioni per l'uso, i reagenti forniti non sono considerati presentare un pericolo per la salute.

- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata.
- I reagenti al lattice dovrebbero essere portati a temperatura ambiente (da 18 a 30 °C) prima dell'uso. I reagenti al lattice che mostrano tracce di aggregazione o agglutinazione prima dell'uso potrebbero essersi congelati e non devono essere utilizzati
- 6.9 Quando si utilizzano i flaconi contagocce, è importante mantenerli in posizione verticale per consentire la corretta formazione della goccia sulla punta del beccuccio. Se il beccuccio si bagna prima che arrivi la goccia, si rischia di dispensare gocce di volume inappropriato formatesi attorno al bordo anziché sulla punta. In tal caso, è necessario asciugare il beccuccio prima di procedere.
- 6.10 I reagenti forniti con ogni kit sono combinati tra loro in maniera specifica e non dovrebbero essere utilizzati con reagenti appartenenti a kit di lotti diversi.
- Non toccare le superfici reattive delle carte.
- 6.12 Possono essere anche utilizzati rotatori meccanici per questo test. A tal fine, si considerano appropriate le seguenti caratteristiche:
 - i) Rotatori orbitali (noti anche come rotatori dimensionali) funzionanti a 25 rpm con angolo di rotazione approssimativo compreso tra 9 e 10.5 gradi o funzionanti a 18 giri/min con angolo di rotazionecompreso tra 16 e 17.5 gradi.
- 6.13 6.13 Impedire eventuali contaminazioni microbiche dei reagenti che
 - potrebbero determinare risultati erronei.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- I campioni di fluido corporeo (per es. CSF, siero, urina) dovrebbero essere sottoposti a test nel più breve tempo possibile dopo il prelievo. Se il fluido non può essere sottoposto a test immediatamente, è possibile conservarlo per una notte a temperatura compresa tra 2 e 8 °C o per periodi più lunghi congelandolo a temperatura da -15 a -25°C. Se sono richieste analisi batteriologiche sul campione, queste dovrebbero essere attuate prima di eseguire il test al lattice per impedire eventuali contaminazioni del
- Le colture ematiche possono essere sottoposte a prelievo di campioni e testate dopo incubazione da 18 a 24 ore a 37 °C e/o non appena si osserva crescita batterica.
- Colture in piastra (solo N. meningitidis B/E. coli K1). Le colonie isolate cresciute su terreno agar arricchito (per es. agar-sangue, agar-cioccolato) possono essere sottoposte a test dopo incubazione per una notte a 37 °C. Può essre effettuata una colorazione di Gram per facilitare l'interpretazione del risultato del test al lattice.

PROCEDURA DI TEST

MATERIALI NECESSARI INCLUSI NEL KIT

Vedere Contenuto del kit, sezione 5. MATERIALI NECESSARI NON INCLUSI NEL KIT

Bagno d'acqua in ebollizione

Filtri a membrana o centrifuga da laboratorio (0.45 um) Rotatore (opzionale – vedere Precauzioni, sezione 6)

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI CLINICI

- I campioni di fluidi corporei devono essere riscaldati prima dell'esecuzione del test mediante la procedura Wellcogen per ridurre al minimo le reazioni aspecifiche^{4,6}. Si raccomandano le procedure seguenti:
 - a) Per il fluido cerebrospinale e l'urina, riscaldare il campione per 5 minuti in un bagno d'acqua in ebollizione. Raffreddare il campione a temperatura ambiente (da 18 a 30 °C) e chiarificare mediante filtrazione a membrana o centrifugazione (0.45 μm) prima di eseguire il test. Per la massima sensibilità, i campioni di urina possono essere concentrati fino a 25 volte in un concentratore Minicon® B-15. Chiarificare come sopra descritto prima del test.
 - b) Per il siero, aggiungere 3 volumi di etilendiamminotetraacetato di sodio (EDTA) 0,1 M a pH 7,4 per 1 volume di siero, riscaldare il campione per 5 minuti in un bagno d'acqua in ebollizione, raffreddare a temperatura ambiente (compresa tra 18 e 30 °C) e chiarificare come sopra descritto. È disponibile una soluzione EDTA appropriata (10 ml) (Code N° ZL29/R30164501).
- Colture ematiche. Centrifugare un campione di 1-2 ml per ottenere un pellet di eritrociti, per esempio a 1000 g per 5-10 minuti. Eseguire il test al lattice sul supernatante. Se si verifica una reazione aspecifica con un supernatante di coltura ematica (vedere Interpretazione dei Risultati, sezione 10), riscaldare il campione in un bagno d'acqua in ebollizione per 5 minuti, raffreddare a temperatura ambiente (da 18 a 30 °C), chiarificare mediante centrifugazione e ripetere il test.
- Colture in piastra (solo N. meningitidis B/E. coli K1). Eseguire il test direttamente dalla piastra di coltura.

PROCEDURA

Si raccomanda di leggere attentamente la sezione 6 Precauzioni prima di eseguire il test.

Campioni di fluidi corporei e Supernatanti di coltura ematica:

NOTA: Se è disponibile soltanto un volume di campione di test limitato, si consiglia di utilizzarlo inizialmente con i Lattici di Test e in caso di risultato positivo di sottoporre a test il campione con il Lattice di Controllo appropriato. Se è disponibile un campione sufficiente, s consiglia di sottoporlo a test con i Lattici di Test e di Controllo simultaneamente.

- Processare il campione come descritto in Preparazione dei campioni clinici.
- Agitare i reagenti al lattice
- Versare 1 goccia di ogni Lattice di Test o Lattice di Controllo in un cerchio separato su una carta reattiva. Assicurarsi di mantenere i flaconi contagocce in posizione verticale per dispensare una goccia di volume appropriato. (Vedere Precauzioni, sezione 6).
- Utilizzando un flacone contagocce 1 goccia monouso, dispensare 1 goccia (circa 40 μ l) di Campione di Test accanto a ogni goccia di lattice.
- Miscelare il contenuto di ogni cerchio con una bacchetta di miscelazione e spanderlo in modo da coprire l'intera superficie del cerchio. Utilizzare una bacchetta separata per ogni cerchio e scartarla dopo l'uso per lo smaltimento appropriato.
- Scuotere lentamente la carta e osservare 3 min se vi sono tracce di agglutinazione per 3 minuti, tenendo la carta a una distanza di lettura normale (25 - 35 cm) dagli occhi. Non usare una lente di ingrandimento. Può essere utilizzata anche la rotazione meccanica (3 minuti) (Vedere **Precauzioni**, sezione **6**). I pattern ottenuti sono netti e chiaramente riconoscibili in tutte le normali condizioni di illuminazione.
- Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.

Coltura in piastra

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

- Fase 1 Agitare i reagenti al lattice. Fase 2 Per ogni coltura da sottoporre a test, deporre 1 goccia di Lattice di Test in un cerchio su una carta reattiva e 1 goccia di
- Lattice di Controllo in un cerchio separato. NOTA: è essenziale utilizzare il Lattice di Controllo per le colture di E. coli sospette.

1 goccia

- Con una bacchetta di miscelazione. Campione prelevare una parte della coltura con l'estremità piatta della bacchetta. Come indicazione, dovrebbe essere prelevata una quantità dalla coltura più o meno equivalente a 1 grossa colonia.
- Emulsionare il campione della coltura nella goccia del Lattice di Test strofinando con la punta piatta della bacchetta. Strofinare con decisione ma non con eccessivo vigore per non danneggiare la superficie della carta reattiva. Spandere il lattice in modo da coprire quanto più possibile la superficie del cerchio. Scartare la bacchette di miscelazione per lo smaltimento appropriato.
- Fase 5 Utilizzando una bacchetta separata, emulsionare un analogo campione della coltura nel Lattice di Controllo.
- Scuotere lentamente la carta e osservare se vi sono tracce di agglutinazione per 20 secondi, tenendo la carta alla normale distanza di lettura (25 - 35 cm) dagli occhi. Non usare una lente di ingrandimento. I pattern ottenuti sono netti e facilmente riconoscibili in tutte le normali condizioni di illuminazione
- Fase 7 Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le seguenti procedure dovrebbero essere eseguite inizialmente con ogni lotto di spedizione dei kit di test e con ogni serie di campioni di test. Una serie può essere in pratica definita come un periodo di test di durata fino a 24 ore. Qualunque deviazione dai risultati attesi indica che può esservi un problema con i reagenti che deve essere risolto prima del successivo utilizzo con i campioni clinici

ISPEZIONE VISIVA

Le sospensioni di lattice dovrebbero sempre essere ispezionate per rilevare eventuali tracce di aggregazione quando si dispensano sulla carta reattiva. Se vi è traccia di agglutinazione prima dell'aggiunta del campione di test, la sospensione non deve essere utilizzata

Dopo una prolungata conservazione, possono manifestarsi tracce di aggregazione o essiccazione del lattice attorno all'imboccatura del flacone. In tal caso, occorre agitare vigorosamente il flacone per alcuni secondi fino alla completa risospensione.

PROCEDURA CON CONTROLLO POSITIVO

La reattività del test può essere confermata aggiungendo un Controllo Positivo Polivalente in un cerchio di reazione in cui il campione di test non ha agglutinato il Lattice di Test dopo rotazione per 3 minuti.

- Utilizzando un contagocce monouso, 1 goccia aggiungere 1 goccia di Controllo Positivo nel cerchio contenente il Lattice di Test e il campione.
- Miscelare utilizzando una bacchetta di miscelazione e scartarla dopo l'uso per lo smaltimento appropriato.
- Scuotere la carta manualmente o mediante un rotatore per altri 3 minuti. Dopo questo tempo, dovrebbe essere visibile una netta agglutinazione nel Lattice di Test.
- Fase 4 Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.

PROCEDURA CON CONTROLLO NEGATIVO

Se almeno un campione di test di una serie fornisce un risultato negativo con i Lattici di Test e di Controllo (o solo Lattice di Test senza Lattice di Controllo), questo costituisce un controllo negativo valido per i reagenti e non sono necessari ulteriori test.

Se un campione di test mostra agglutinazione con il Lattice di Test e nessuna agglutinazione con il Lattice di Controllo, è consigliabile testare il Lattice di Test con il Controllo Negativo o con terreno di coltura ematica non inoculato, come opportuno (vedere di

- Fase 1 Deporre una goccia di Lattice di Test 1 goccia in un cerchio su una Carta Reattiva
- Dispensare una goccia di Controllo 1 goccia Negativo o terreno di coltura ematica non inoculato accanto al Lattice di Test.
- Miscelare utilizzando una bacchetta Fase 3 di miscelazione e scartarla dopo l'uso per lo smaltimento appropriato
- Scuotere la carta manualmente o mediante 3 min un rotatore per altri 3 minuti. Dopo questo tempo, non dovrebbe esservi una significativa agglutinazione nel Lattice di Test.
- Scartare la carta reattiva utilizzata per Fase 5 lo smaltimento appropriato.

Per i test con campioni di fluido corporeo, dovrebbe essere utilizzato il Controllo Negativo fornito nel kit.

Per i test con colture ematiche, dovrebbe essere utilizzato come controllo negativo un campione di terreno di coltura ematica non inoculato della stessa origine del campione. Nota: è importante effettuare il test su terreni non inoculati, poiché potrebbero prodursi falsi positivi con alcune formulazioni di terreni di coltura ematici.

Nota:

- Come controlli positivi e negativi, possono essere eventualmente utilizzati campioni positivi e negativi già sottoposti a test precedentemente, opportunamente aliquotati e conservati a temperatura compresa tra -15 e −25 °C o inferiore. Il Controllo Positivo può essere anche utilizzato al posto del campione di test.
- Per i test di identificazione su colonie (solo Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1), le prestazioni dei reagenti al Lattice di Test e di Controllo possono essere confermate utilizzando colture fresche di ceppi batterici di riferimento, cresciute dopo una notte di incubazione, seguendo il metodo descritto nella sezione Procedura di Test. Sono ceppi di riferimento idonei:
 - ATCC 13090 N. meningitidis gruppo B (reattività positiva)
 - ATCC 23503 E. coli tipo K1 (reattività positiva)
 - ATCC 13077 N. meningitidis gruppo A (reattività negativa)

ATCC 13090 e ATCC 23503 dovrebbero dare agglutinazione con il Lattice di Test e nessuna significativa agglutinazione nel Lattice di Controllo, ATCC 13077 non dovrebbe dare nessuna significativa agglutinazione con il Lattice di Test o di Controllo.

10. RISULTATI

LETTURA DEI RISULTATI

Una reazione **positiva** è indicata dallo sviluppo di un pattern agglutinato entro 3 minuti (20 secondi per i test su colonie) dalla miscelazione del lattice con il campione di test, mostrando un'agglutinazione di particelle di lattice chiaramente visibile (Figura 1).

La velocità di comparsa e la qualità dell'agglutinazione dipende dalla resistenza dell'antigene, variabile da grandi agglomerati che compaiono entro pochi secondi dalla miscelazione a piccoli agglomerati che si sviluppano piuttosto lentamente. Nell'identificazione della coltura, le reazioni più positive sono pressoché istantanee.

In una reazione **negativa**, il lattice non agglutina e l'aspetto lattiginoso rimane sostanzialmente invariato per tutto il test (Figura 2). Va tuttavia osservato che si possono rilevare deboli tracce di granularità nei pattern negativi, a seconda dell'acutezza visiva dell'operatore.

Nell'identificazione della coltura, alcuni ceppi possono dare origine a un'aggregazione "filamentosa" del lattice su un fondo lattiginoso; questo dovrebbero essere interpretato come una reazione negativa.

NOTA: Le particelle di lattice utilizzate nelle sospensioni di Lattice di Test e di Controllo Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 non sono le stesse utilizzate per gli altri reagenti e forniscono un'agglutinazione più fine.

Figura 1





INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato Positivo

Una chiara agglutinazione di un singolo Lattice di Test accompagnata da reazioni negative con tutti gli altri reagenti al Lattice di Test e al Lattice di Controllo indica la presenza e l'identità di un antigene batterico nel campione di test. Come regola generale, un risultato positivo con Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 su un campione neonatale suggerisce un'infezione da E. coli K1, mentre in pazienti di età superiore è più probabile un'infezione meningococcica di gruppo B.

Risultato Negativo

Reazioni negative con tutti i reagenti al Lattice di Test indicano l'assenza di un livello rilevabile di antigeni batterici nel fluido di test, ma non escludono la possibilità di un'infezione causata da tali organismi e, se i sintomi persistono, può essere auspicabile eseguire il test su campioni successivi o alternativi o dopo concentrazione del campione di urina.

In una coltura, l'assenza di agglutinazione nei reagenti Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 indica che è improbabile che si tratti di N. meningitidis gruppo B o E. coli K1.

Risultato non interpretabile

L'agglutinazione di più reagenti al Lattice di Test o corrispondenti Lattici di Test e di Controllo indica una reazione aspecifica. Nella maggior parte dei casi, le reazioni aspecifiche con fluidi corporei possono essere eliminate mediante riscaldamento e chiarificazione del campione4 (vedere Preparazione dei Campioni Clinici, sezione 8). Se si verifica una reazione aspecifica con un supernatante di coltura ematica, riscaldare il campione in un bagno d'acqua in ebollizione per 5 minuti, raffreddare a temperatura ambiente (da 18 a 30 °C), chiarificare mediante centrifugazione e ripetere il test.

11. LIMITI DI PERFORMANCE

- 11.1 Per fluidi corporei in età infantile (solo streptococco di Gruppo B) Possono prodursi risultati di test falsi-negativi con campioni contenenti livelli di antigeni al disotto dei limiti di rilevazione di questo dispositivo. I risultati negativi dovrebbero essere verificati mediante coltura in brodo selettivo. Un risultato positivo indica la presenza di antigene streptococcico di Gruppo B; il risultato non necessariamente indica la presenza di organismi vitali.
- 11.2 Per fluidi corporei in età infantile (solo streptococco di Gruppo B) – L'uso di questo dispositivo non dovrebbe sostituire la coltura microbiologica. L'efficacia di questo dispositivo per la predizione della malattia da Streptococco di Gruppo B dai test di urina in età infantile non è stata stabilita.
- 11.3 Le infezioni da streptococco di Gruppo B si manifestano principalmente nei neonati. I risultati positivi ottenuti con campioni di fluidi corporei da pazienti di età superiore a sei mesi dovrebbero essere interpretati con cautela. I risultati positivi ottenuti con supernatanti di coltura ematica da pazienti di qualunque età possono essere significativi.
- 11.4 Un risultato positivo nel test dipende dalla presenza di un livello rilevabile di antigene nel fluido corporeo o nel terreno di coltura ematica.
- 11.5 Sono disponibili dati clinici limitati per la rilevazione dell'antigene nell'urina o nel siero utilizzando Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1 (Tabella 6). Non sono disponibili dati clinici per la rilevazione dell'antigene nell'urina utilizzando Wellcogen N. meningitidis ACY W135 (Tabella 5). Tuttavia, è stato segnalato l'antigene in campioni ACY W135 di urina⁵.
- 11.6 Sono stati riferiti alcuni esempi di batteri non correlati che possiedono antigeni comuni e, come per qualunque sistema di test immunologico, non può essere esclusa la possibilità di reazioni crociate emergenti dal test al lattice^{1,3,8,9}.

12. RISULTATI ATTESI

I campioni contenenti un livello rilevabile dell'antigene streptococcico di gruppo B, dell'antigene H. influenzae tipo b, dell'antigene capsulare S. pneumoniae, degli antigeni N. meningitidis A, C, Y, W135 o dell'antigene N. meningitidis B / E. coli K1, forniranno una reazione di agglutinazione con il Lattice di Test appropriato.

13. CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

13.1 Fluidi corporei e Colture ematiche

Sono stati effettuati studi clinici presso 15 centri utilizzando campioni di fluidi corporei (freschi e conservati refrigerati) e supernatanti in coltura ematica. Negli studi su colture ematiche, sono state impiegate entrambe le tecniche colturale tradizionale e radiometrica. I campioni di fluido corporeo conservati non sono stati sottoposti a trattamento termico come descritto in Preparazione dei Campioni Clinici, sezione 8. Estesi test di laboratorio non hanno mostrato una significativa perdita dell'antigene dopo il riscaldamento con questa procedura.

Sensibilità

La sensibilità di ogni lattice del kit è stata stabilita da test su colture di campioni positivi per l'organismo omologo o per i quali vi erano altre evidenze di infezione (diagnosi clinica più altro test dell'antigene positivo).

Le Tabelle da 2 a 6 mostrano il numero di campioni per tipo sottoposti a test con i singoli lattici, unitamente al numero di risultati positivi ottenuti. La sensibilità di ogni lattice nel rilevamento dell'antigene batterico nel fluido cerebrospinale (CSF) è stata pari al 67% (12/18) per Wellcogen Strep B, 97% (87/90) per Wellcogen H. influenzae b, 88% (45/51) per Wellcogen S. pneumoniae, 71% (29/41) per Wellcogen N. meningitidis ACY W135 e 65% (11/17) per Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1.

Specificità

La specificità di ognuno dei reagenti Wellcogen è stata valutata utilizzando campioni di fluido corporeo (fresco e refrigerato) e campioni di coltura ematica prelevati da pazienti con meningite batterica o asettica e altre condizioni non correlate.

Gli organismi isolati dai campioni infetti erano H. influenzae b, S. pneumoniae, N. meningitidis inclusi i gruppi A, B, C, Y, E. coli, Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, streptococco alfaemolitico, streptococco beta-emolitico di gruppo A, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas, Streptococcus sanguis, Toxoplasma gondii e un batterio coliforme.

La specificità di tutti i cinque lattici Wellcogen nei test sul fluido cerebrospinale è stata maggiore del 98%. I dettagli relativi al numero di campioni sottoposti a test e la specificità di ogni Wellcogen con ogni tipo di campione sono indicati nei prospetti da 2 a 6.

13.2 Colture in piastra (N. meningitidis B/E. coli K1).

Le colture di N. meningitidis e E. coli cresciute su un terreno agar arricchito sono state sottoposte a test presso laboratori ospedalieri e in azienda. Tutte le colture di N. meningitidis gruppo B e E. coli K1 sono state correttamente identificate. Non sono emerse reazioni crociate con altri gruppi di N. meningitidis o altri antigeni di E. coli K (Tabella 7). Un'elevata proporzione delle colture di E. coli con altri antigeni K che sono state sottoposte a test hanno fornito reazioni aspecifiche (Tabella 7).

Tabella 1

Campioni valutati con singoli reagenti al lattice Wellcogen

	Campione			Wellcogen	
	Strep. B	H. influenzae b	S. pneumo	niaeN. meningitid ACY W135	lisN. meningitidis B/E. coli K1
Fluido					
cerebrospinale	+	+	+	+	+
Siero	+	+	+	+	+*
Urina	+	+	+	+*	+*
Coltura ematica	+	+	+	+	+
Colonie batteric	he –	-	-	-	+

Legenda

- Dati disponibili a supporto di questa applicazione.
- +* Limitata disponibilità dei dati.

Nessun dato disponibile. **Tabella 2**

Risultati di studi clinici su Wellcogen Strep B

	Sens	ibilitàª	Specificità ^b	
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi
Fluido cerebrospinale	18	12	58	1°
Siero	19	13	7	0
Urina	20	17	22	1 ^d
Coltura ematica	9	9	369	4e

- ^a streptococco beta-emolitico di gruppo B isolato/indicato 7.
- (diagnosi clinica/altro test dell'antigene).

 b Batteri diversi da Strep. B/nessuna crescita.
- ^c E. coli isolato.
- d P. mirabilis isolato.
- e Staph. epidermidis; strep. beta-emolitico di gruppo A; E. coli + Enterococcus; Staph. epidermidis + Enterococcus isolato. Tabella 3

Risultati di studi clinici su Wellcogen H. influenzae b

	Sens	itività	Spec	cificità		
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi		
Fluido cerebrospinale	90	87	375ª	2 ^b		
Siero	21	20	21	0		
Urina	10	10	236	0		
Coltura ematica	54	54	1566°	5 ^d		

- Un solo campione di fluido cerebrospinale aggiuntivo ha fornito una reazione aspecifica.
- b Un solo campione asettico; E. coli isolato da un altro campione.
 c Due supernatanti da coltura ematica aggiuntivi hanno fornito reazioni aspecifiche.

^d Un solo campione asettico. Altri campioni hanno evidenziato: Staph. aureus; E. coli + Staph. epidermidis; K. oxytoca; streptococcus alfaemolitico.

Tabella 4

Risultati di studi clinici su Wellcogen S. pneumoniae

		-	•		
	Sens	ibilità	Spec	cificità	
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi	
Fluido cerebrospinale	51	45	483ª	2 ^b	
Siero	6	6	13	0	
Urina	105	46	320°	0	
Coltura ematica	113	109	1512	7 ^d	

- ^a Un solo campione di fluido cerebrospinale aggiuntivo ha fornito una reazione aspecifica.
 ^b Enterobacter aerogenes; batterio coliforme.
- Tre campioni di urina aggiuntivi hanno fornito reazioni aspecifiche.
- ¹ Pseudomonas; Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus; Strep. viridans isolato da 4 campioni.

Tabella 5 Risultati di studi clinici su Wellcogen N. meningitidis ACY W135

	Sens	bilità Specificità		ificità	
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi	
Fluido cerebrospinale	41ª	29	423	2 ^b	
Siero	5	3	36	0	
Urina	0	-	229°	0	
Coltura ematica	7	7	1615	2^{d}	

- ^a Comprende 8 di gruppo A, 25 di gruppo C e 1 di gruppo Y (i restanti non erano in gruppi).
- K. aerogenes; E. coli.
- ^c Cinque campioni di urina aggiuntivi hanno fornito reazioni aspecifiche.
- Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus. **Tabella 6**

Risultati di studi clinici su Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

	_	-		
	Sensibilità		Spec	rificità
Campione	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi
luido cerebrospinale				
I. meningitidis B	11	7	128	0
. coli K1ª	6	4	128	0
Siero: N. meningitidis B	2	1	3	0
Jrina: N. meningitidis B	2	1	7	0
Coltura ematica:				
I. meningitidis B	7	5	461	3 ^b

a Campioni conservati refrigerati. Tutti gli altri campioni di test erano

b Colture aerobiche e anaerobiche (strep A beta-emolitico) per lo stesso paziente; staphylococcus coagulasi-negativo.

Tabella 7

Identificazione delle colture utilizzando Wellcogen N. meningitidis B/E. coli K1

TT CHOOS CHILLIAN	5, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 6,	_
Colturaª	+	-
N. meningitidis gruppo A	0	16
N. meningitidis gruppo B	10	0
N. meningitidis gruppo C	0	18
N. meningitidis gruppo 29E	0	8
N. meningitidis gruppo W135	0	7
N. meningitidis gruppo X	0	4
N. meningitidis gruppo Y	0	5
N. meningitidis gruppo Z	0	3
E. coli K1	7	0
E. coli – altri antigeni	0	13 ^b

- ^a Colture identificate mediante agglutinazione su vetrino.
- ^b 10 colture aggiuntive hanno fornito reazioni aspecifiche.

. BIBLIOGRAFIA

- Argaman, M., Liu, T.Y., et al (1974). Polyribitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria crossreactive with the capsular polysaccharide of Haemophilus influenzae type b. J. Immunol., 112, 649.
- Baker, C.J. and Rench, M.A. (1983). Commercial latex agglutination for detection of group B streptococcal antigen in body fluids. J. Pediatr., 102, 393.
- Bøvre, K., Bryn, K., et al (1983). Surface polysaccharide of Moraxella non-liquefaciens identical to Neisseria meningitidis group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. NIPH Annals, 6, 65.
- Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980). Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. J. Clin. Microbiol., 11, 380.
- Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976). Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J. Pediatr., 89, 773. 6 Kaldor, J., Asznowicz, R., et al (1977). Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. Amer. J. Clin. Path., 68, 284.
- Kasper, D.L., Winkelhake, J.L., et al (1973). Immunochemical similarity between polysaccharide antigens of Escherichia coli 07:K1(L):NM and group B Neisseria meningitidis. J. Immunol., 110, 262.
- Lee, C.J. and Koizumi, K. (1981). Immunochemical relations between pneumococcal group 19 and Klebsiella capsular polysaccharides. J. Immunol., 127, 1619.
- Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972). Enteric bacteria cross-reactive with Neisseria meningitidis groups A and C and Diplococcus pneumoniae types I and III. Infect. Immun., 6,
- Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974). Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.



Istruzioni per l'uso IFU X7713B, Revisione luglio 2014



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

Per assistenza tecnica, rivolgersi al proprio distributore di zona.