

dot.: PN 25/17

DZP 323/2017

dot.: pytań do specyfikacji istotnych warunków zamówienia do postępowania w sprawie udzielenia zamówienia publicznego przeprowadzanego w trybie przetargu nieograniczonego na dostawę odczynników, testów mikrobiologicznych i drobnego sprzętu laboratoryjnego do Szpitala Klinicznego im. K. Jonschera UM w Poznaniu (PN 25/17).

Pytanie nr 1 – dotyczy Pakietu nr 6, poz. 3

Czy Zamawiający wyraża zgodę na pominięcie pozycji 3 w pakiecie 6 w przypadku, gdy wyspecyfikowany odczynnik zawarty jest w zestawie oferowanym w pozycji 1?

Odpowiedź: Tak, wyrażamy zgodę.

Pytanie nr 2 – dotyczy Pakietu nr 6, poz. 8

Czy Zamawiający w pakiecie 6 wyraża zgodę na podpisanie umowy dotyczącej płatnego odczytu testów wyspecyfikowanych w pozycji 8 i rozszerzenie formularza cenowego o wiersz zawierający wycenę wymaganych odczytów?

Odczyt dokonywany jest przez pracownika wykonawcy, na prośbę Zamawiającego przekazaną drogą telefoniczną.

Odpowiedź: Nie, nie wyrażamy zgody. Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 3 – dotyczy Pakietu nr 6, poz. 1

Czy w pakiecie 6 Zamawiający odstąpi od wymogu dostarczenia wraz z pierwszą dostawą certyfikatu kontroli jakości dla pozycji 1, jeśli Wykonawca udostępni adres strony internetowej, na której wymagana dokumentacja będzie się znajdowała? Uzasadnienie: W ofercie Wykonawca przedstawi adres strony internetowej, na której będą znajdowały się aktualne certyfikaty kontroli jakości do danych serii odczynników, instrukcje wykonania testów/ulotki informacyjne oraz karty charakterystyk substancji niebezpiecznych w języku polskim, deklaracje zgodności dostępne dla Zamawiającego całodobowo.

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 4 – dotyczy Pakietu nr 6

Czy Zamawiający dopuści złożenie metodyk w języku polskim w formie elektronicznej lub w formie książkowej podpisanej tylko na pierwszej tytułowej stronie?

Odpowiedź: Wyrażamy zgodę na formę książkową podpisaną tylko na pierwszej tytułowej stronie.

Pytanie nr 5 – dotyczy Pakietu nr 6, poz. 1 i 8

Czy Zamawiający dopuści złożenie oferty na odczynniki z następującymi terminami ważności:

- a. Poz. 1 min. 7 miesięcy?
- b. Poz. 8 min. 4 miesiące?
- c. Poz. 8 odczynniki dodatkowe skala McFarlanda – min. 3 miesiące?

Uzasadnienie: ze względu na skład i komponenty nie można określić termin ważności odczynników na minimum określone w SIWZ. Wykonawca nie ma prawa gwarantować okresu ważności dłuższego niż zalecany przez producenta.

Odpowiedź:

Ad. a. Tak, wyrażamy zgodę.

Ad. b. Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Ad. c. Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 6 – dotyczy projektu umowy Pakiet 6 §3

Czy Zamawiający odstąpi od wymogu dostarczania dokumentów, jeśli Wykonawca udostępni adres strony internetowej, na której wymagana dokumentacja będzie się znajdowała i produkty, których to dotyczy będą posiadały właściwe oznakowanie? Uzasadnienie: W ofercie Wykonawca przedstawi adres strony internetowej, na której będą znajdowały się aktualne certyfikaty kontroli jakości do danych serii odczynników, instrukcje wykonania testów/ulotki informacyjne oraz karty charakterystyk substancji niebezpiecznych w języku polskim, deklaracje zgodności dostępne dla Zamawiającego całodobowo.

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 7 – dotyczy projektu umowy §8 ust. 2

Czy Zamawiający wyraża zgodę na modyfikację postanowienia umownego na: „W przypadku odstąpienia od umowy lub jej rozwiązania przez Zamawiającego z winy leżącej po stronie Dostawcy, Dostawca zobowiązany jest do zapłacenia kary umownej w wysokości 5% wartości netto niewykonanej części dostawy.”?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 8 – dotyczy projektu umowy §2 ust. 2

Z uwagi specjalne ceny oferowane Zamawiającemu przez wykonawców, kalkulowane na podstawie ilości podanych przez Zamawiającego w przetargu, czy Zamawiający nie rozważy możliwości zmiany zapisu na: „Zamawiający zastrzega sobie prawo zmiany ilości zamawianego asortymentu, jednak niezrealizowana wartość umowy nie może być większa niż 20% wartości umowy”?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 9 – dotyczy projektu umowy §2 ust. 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na dodanie do paragrafu sformułowania, iż „Zamawiający będzie składał zamówienia według bieżących potrzeb, przy czym wartość zamówienia jednostkowego nie powinna być mniejsza niż 150 zł netto”?

Prośbę motywujemy to tym, że dla zamówień poniżej 150 zł. koszty transportu na które składają się m.in.: koszty opakowania transportowego, robocizny, koszty wydrukowania listów przewozowych i faktury, koszty dostarczenia towaru przez przewoźnika, są wyższe niż wartość marży uzyskanej ze sprzedaży towaru o takiej wartości.

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 10 – dotyczy projektu umowy §5 ust. 2 a) oraz 3

W związku z tym, iż Strony umowy nie mają wpływu na urzędowe zmiany stawek podatku VAT, czy Zamawiający dopuszcza możliwość dokonania zmiany stawek podatku VAT, w przypadku zmian przepisów podatkowych i celnych w trakcie trwania umowy bez konieczności zawierania odrębnego aneksu?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 11 – dotyczy Pakietu nr 7, poz. 1, 2, 3

Prosimy o wyjaśnienie czy Zamawiający dopuści wymazówki z wacikiem wiskozowym.

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 12 – dotyczy Pakietu nr 7, poz. 4

Prosimy o wyjaśnienie czy Zamawiający dopuści wymazówki z wacikiem bawełnianym?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 13 – dotyczy Pakietu nr 7

Jaką klasę czystości Zamawiający oczekuje? Czy wymaga wyrobów sterylnych radiacyjnie (sterile - R) czy dopuszcza wyroby aseptyczne lub sterylizowane gazowo?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 14 – dotyczy Pakietu nr 1

Czy Zamawiający wymaga oznaczenia ostatniego krążka nadrukowanym znakiem „x” (dotyczy pozycji z Lp.1-51)?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 15 – dotyczy Pakietu nr 4, poz. 5

Czy Zamawiający dopuści w tej pozycji Agar Sabouraud Brain Heart Infusion z chloramfenikolem i gentamycyną?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 16 – dotyczy projektu umowy

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na dodanie poniższego zapisu w § 2 :

„Zamawiający zastrzega sobie prawo do częściowej realizacji umowy, jednak niezrealizowana wartość umowy nie może być większa niż 20% wartości umowy”.

Zgodnie z opinią UZP instytucja prawa zakłada, że zamawiający każdorazowo określa minimalny poziom zamówienia, który zostanie na pewno zrealizowany, co pozwala wykonawcom na rzetelne i właściwe dokonanie wyceny oferty, wskazując jednocześnie dodatkowy zakres, którego realizacja jest uzależniona od wskazanych w kontrakcie okoliczności i stanowi uprawnienie zamawiającego, z którego może, ale nie musi on skorzystać. W orzeczeniu Krajowej Izby Odwoławczej z dnia 11 stycznia 2008 r. (sygn. akt KIO/UZP 22/07) Izba wskazała, że niedopuszczalną praktyką jest określenie przez zamawiającego jedynie górnej granicy swojego zobowiązania, bez wskazania nawet minimalnej ilości, czy wartości, którą na pewno wyda na potrzeby realizacji przedmiotu zamówienia. „Taki sposób określenia przedmiotu zamówienia nie spełnia wymogów art. 29 ust 2 ustawy Pzp, który nakazuje, aby przedmiot zamówienia był opisany w sposób wyczerpujący i konkretny”, izba uznała ponadto w tym przypadku, że „zamawiający zastosował praktykę handlową, która pozostawia wykonawcę w niepewności, co do zakresu, jaki uda mu się zrealizować w ramach umowy, oraz uniemożliwia kalkulację ceny umownej. W efekcie na wykonawcę zostaje przerzucone całe ryzyko gospodarcze kontraktu, co z kolei stoi w sprzeczności z zasadą równości stron umowy”. Instytucja prawa opcji pozwala zatem na precyzyjne określenie poziomu zamówienia, który zostanie przez zamawiającego zrealizowany, co pozwala wykonawcom na prawidłowe dokonanie wyceny oferty (por. wyrok KIO z dnia 23 lipca 2010 r., sygn. akt KIO/UZP 1447/10, wyrok KIO z dnia, sygn. akt KIO/UZP 2376/10).

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 17 – dotyczy projektu umowy

W nawiązaniu do zapisów SIWZ, sugerujących konieczność uwzględnienia w cenie oferty wszystkich kosztów związanych z realizacją zamówienia, zwracamy się z prośbą o podanie prognozowanej ilości zamówień, składanych przez Zamawiającego w trakcie realizacji umowy w sprawie zamówienia publicznego.

Powyższe stanowi niezbędne informacje, konieczne do właściwego przygotowania oferty przetargowej w zakresie dokonania właściwej wyceny asortymentu w koszt którego Wykonawcy powinni w kalkulować koszt wykonywanych dostaw.

Dodatkowo wnosimy o wprowadzenie do projektu umowy zapisu o następującym brzmieniu:
„Zamawiający oświadcza, że w trakcie realizacji umowy przewiduje realizację maksymalnie dostaw miesięcznie, co daje liczbę dostaw przez pełen okres obowiązywania niniejszej umowy. W przypadku złożenia większej ilości zamówień od ilości prognozowanych w okresie miesięcznym, Zamawiający wyraża zgodę na realizację zamówienia w terminie dostosowanym do prognoz.”

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 18 – dotyczy Pakietu nr 2

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie w pozycji nr 5 krążków, które należy przechowywać w temperaturze poniżej -10°C?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 19 – dotyczy Pakietu nr 2

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie w pozycjach 1-6 krążków w opakowaniach zbiorczych zawierających 5 fiolek x 50 krążków bez pochłaniacza wilgoci?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 20 – dotyczy Pakietu nr 2

Czy Zamawiający wyrazi zgodę aby w certyfikacie dla pozycji nr 7 nie było informacji o terminie produkcji? W metodyce znajduje się informacja o terminie ważności pożywki.

Odpowiedź: Tak, wyrażamy zgodę.

Pytanie nr 21 – dotyczy Pakietu nr 2

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie w pozycji nr 7 produktu pochodzącego od innego producenta?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 22 – dotyczy Pakietu nr 2

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie w pozycji nr 7 produktu o składzie (skład podany w g/ L wody):

- Wyciąg mięsny 1,0 g
- Pirogronian sodu 5,0 g
- Ekstrakt z żółci 1,5 g
- Siarczan amonu 1,0 g
- Siarczan amonowo-żelazowy 0,01 g
- Siarczan magnezu 0,2 g
- Wodorofosforan dipotasu 4,3 g
- Diwodorofosforan potasu 2,1 g
- Fiolet krystaliczny 0,001 g
- Czerwień fenolowa 0,02 g
- Agar 15,0 g
- Tikarcyлина 100 mg
- Polimyksyna B 300,000 IU?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 23 – dotyczy Pakietu nr 3

W przypadku warunków postawionych dla pakietu nr 3 zachodzi podejrzenie naruszenia ustawy PZP, ponieważ dane wymagania wskazują na konkretnego Wykonawcę. W art. 7 ust 1 PZP napisane jest, że Zamawiający ma obowiązek przygotować i przeprowadzić postępowanie tak, aby możliwe było zachowanie uczciwej konkurencji oraz równego traktowania Wykonawców. Zamawiający postawił warunek, że wszystkie pozycje mają pochodzić od jednego producenta, przy tym opisując wymagania do testów które jednoznacznie wskazują, iż na rynku dane produkty mogą być zaoferowane tylko przez jednego Wykonawcę.

Według art. 29 ust 2 PZP przedmiotu zamówienia nie opisuje się w sposób, który może utrudniać uczciwą konkurencję.

W związku z powyższym prosimy, aby Wykonawca odstąpił od wymogu aby pozycje nr 1-19 pochodziły od jednego producenta.

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 24 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający odstąpi od wymogu posiadania pozytywnej opinii KORLD do podłoża z poz. nr 10?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 25 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie w pozycji nr 10 podłoża, które jest sprawdzane za pomocą krążków antybiotykowych zgodnie z zaleceniami EUCAST, jednak nie posiadającego dokumentu walidacji do pracy na e-testach? W zaleceniach EUCAST nie ma informacji, aby dane podłoże posiadało dokument walidacji do pracy na e-testach.

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 26 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie w pozycjach nr 12-14 podłoża w próbkach plastikowych zamykanych wciskany korkiem?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 27 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie w pozycji nr 15 testu zgodnie z załączoną metodyką (załącznik nr 1 do pytań)?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 28 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie w pozycji nr 15 testu w opakowaniu zawierającym 500 oznaczeń i tym samym czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie 6 opakowań testu?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 29 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie w pozycji nr 16 testu zgodnie z załączoną metodyką (załącznik nr 2 do pytań)? Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaoferowanie 1 takiego opakowania, w którym znajduje się 120 oznaczeń?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 30 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaferowanie w pozycji nr 16 produktu w opakowaniu zawierającym 120 oznaczeń i tym samym na zaferowanie 2 takich opakowań?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 31 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaferowanie w pozycji nr 17 testu zgodnie z załączoną metodyką (załącznik nr 3 do pytań)?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 32 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaferowanie w pozycji nr 18 testu w opakowaniu zawierającym 60 oznaczeń i tym samym na zaferowanie 8 opakowań testu?

Odpowiedź: Tak, wyrażamy zgodę.

Pytanie nr 33 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaferowanie w pozycji nr 18 testu w opakowaniu zawierającym 60 oznaczeń i tym samym na zaferowanie 9 opakowań testu?

Odpowiedź: Tak, wyrażamy zgodę.

Pytanie nr 34 – dotyczy Pakietu nr 3

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na wydzielenie z pakietu pozycji nr 15-18 i utworzenie dla tych produktów oddzielnego pakietu. Takie rozwiązanie pozwoli Zamawiającemu na uzyskanie lepszych cenowo ofert oraz wybór spośród większej liczby złożonych ofert.

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 35 – dotyczy Pakietu nr 4

Czy Zamawiający wyrazi zgodę na zaferowanie w pozycjach nr 1-4 krążków, których temperatura przechowywania wynosi 2-10°C.

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Pytanie nr 36 – dotyczy Pakietu nr 5 - Testy do wykrywania wirusa RS

Czy Zamawiający może określić jaką ilość kontroli oczekuje? Jak często będzie wykonywał kontrolę?

Odpowiedź: Podtrzymujemy dotychczasowe zapisy siwz.

Z poważaniem

Z-ca Dyrektora
ds. Ekonomiczno-Eksploatacyjnych

mgr Edmund Wojszel

M43 MICROGEN® STAPH M433 MICROGEN® STAPH

PRZEZNACZENIE TESTU

MICROGEN® Staph jest szybkim testem lateksowym do potwierdzenia identyfikacji prawdopodobnych kolonii *Staphylococcus aureus* z podłoża wzrostowych do wstępnej izolacji, działającym na zasadzie aglutynacji szkiełkowej.

ZASADA TESTU

Cząsteczki lateksowe są pokryte fibrynogenem (do którego wiąże się koagulaza) i IgG (które wiążą się z białkiem A). Po zmieszaniu z zawiesiną *S. aureus* cząsteczki lateksowe błyskawicznie reagują tworząc zauważalne agregaty. Żadna zauważalna aglutynacja nie zachodzi w nieobecności posiadających koagulazę/białko A gronkowców.

ZAWARTOŚĆ OPAKOWANIA

Odczynnik M43a odczynnik lateksowy na gronkowce:

M43	M433
5 ml	5 x 5 ml

Cząsteczki lateksowe pokryte ludzkim fibrynogenem i IgG konserwowane 0,099% roztworem azydku sodowego (niebieska nakrętka).

Kontrola (+) M43b kontrola dodatnia:

M43	M433
1 ml	2 x 1 ml

Inaktywowany preparat *S. aureus* konserwowany 0,099% roztworem azydku sodowego (czarna nakrętka).

Instrukcja użycia

Jednorazowe kartoniki aglutynacyjne

Jednorazowe pałeczki do mieszania

DODATKOWE MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIE WCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

- czy bakteriologiczne

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Środki bezpieczeństwa:

- Odczynniki dostarczone w tym zestawie przeznaczone są tylko do diagnostyki *in vitro*.
- Azydek sodowy, który służy do konserwowania odczynników w zestawie, może reagować z ołowianą lub miedzianą instalacją kanalizacyjną, tworząc potencjalnie wybuchowe azydki metali. Utylizować zalewając dużą objętością wody, aby zapobiec osadzeniu się azydków.
- IgG i fibrynogen użyte do uczulenia cząstek lateksu otrzymano z ludzkiej plazmy, która po przebadaniu okazała się ujemna na obecność przeciwciał przeciw HIV-1, HIV-2 i HbsAg. Pomimo tego powinno się odczynnik traktować jak materiał potencjalnie zakaźny.
- Należy podjąć odpowiednie środki ostrożności podczas pracy i utylizacji potencjalnych patogenów. Dekontaminację materiału zakaźnego powinno się przeprowadzać przy pomocy podchlorynu sodowego w końcowym stężeniu 3% przez 30 min. Ścieki płynne zawierające kwasy należy neutralizować przed wylaniem.
- Kontrola dodatnia została inaktywowana w czasie procesu wytwarzania. Jednak powinna być traktowana jak materiał potencjalnie zakaźny.

Środki proceduralne:

- MICROGEN® Staph powinien być używany zgodnie z dołączoną instrukcją.
- Pozwolić wszystkim odczynnikiem na osiągnięcie temperatury pokojowej przed użyciem.
- Nie rozcieńczać żadnego odczynnika z zestawu.
- Nie mieszać odczynników z różnych partii i zestawów.
- Nie zamrażać żadnych odczynników.
- Uważać, żeby zakraplacz z odczynnikiem lateksowym nie dotknął kontroli dodatniej lub próbek bakteriologicznych.
- Zachować ostrożność podczas zapisywania wyników aglutynacji. Reakcje, które są zbyt silne lub „włókniste” mogą nie być prawdziwą aglutynacją.
- Przed użyciem upewnić się, że karta jest czysta i sucha.

PRZECHOWYWANIE I TERMIN WAŻNOŚCI

MICROGEN™ Staph powinien być przechowywany w temp. 2 - 8°C, kiedy nie jest używany. Zestawu nie należy używać po upływie daty ważności wydrukowanej na naklejce na kartonie.

MATERIAŁ DO BADANIA

Wybrać 1 - 2 izolowane kolonie rosnące przez 18 - 24 godz. w temp. 35 - 37°C na podłożu do izolacji wstępnej, takim jak agar z 5% krwi. Morfologia badanych drobnoustrojów powinna przypominać morfologię *S. aureus*. Powinno się badać pojedyncze czyste kolonie, aby zminimalizować możliwość błędnych wyników. Jeżeli to konieczne, rozizolować szczep na nowej płytce agarowej. Bakterie z kolonii o atypowej morfologii sprawdzić pod względem barwienia metodą Grama, aby zwiększyć prawdopodobieństwo, że wybrano do badania gronkowce.

SPOSÓB WYKONANIA

Kontrola jakości:

- Kontrola dodatnia: dodać jedną kroplę kontroli dodatniej (M43b) do kółka na karcie testowej. Wymieszać lateks MICROGEN® Staph przez delikatne odwracanie buteleczki i dodać 1 kroplę do tego samego kółka na karcie reakcyjnej; zamieszać pałeczką. **Nie pozwolić, żeby zakraplacz dotknął do kontroli dodatniej.** Delikatnie obracać kartę. Po 2 minutach powinna uwidocznić się aglutynacja, wskazująca na wynik dodatni. Jeżeli nie widać aglutynacji, powinno się użyć nowy zestaw.
- Kontrola ujemna: wymieszać lateks MICROGEN® Staph przez delikatne odwracanie buteleczki i dodać 1 kroplę do kółka na karcie reakcyjnej. Pobrać jedną świeżą (18-24 godz.) kolonię znanego gronkowca koagulazo-ujemnego, np. *Staphylococcus epidermidis* i zawiesić ją w kropli odczynnika lateksowego na karcie. Delikatnie obracać kartę przez 2 minuty. Nie powinna zająć żadna aglutynacja.

Procedura badawcza:

- Wymieszać lateks MICROGEN® Staph przez delikatne odwracanie buteleczki i dodać 1 kroplę do kółka na czystej, suchej karcie reakcyjnej.
- Pobrać jałową czą jedną kolonię badanego szczepu i zawiesić w kropli odczynnika lateksowego na karcie. Rozprowadzić na powierzchni kółka pałeczką do mieszania.
- Delikatnie obracać kartę przez 2 minuty i obserwować, czy pojawia się aglutynacja.
- Po odczycie wrzucić zużyte karty i pałeczki do roztworu odpowiedniego środka dezynfekcyjnego.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Aglutynacja po 2 minutach jest wynikiem dodatnim i wskazuje na obecność *S. aureus*. Brak aglutynacji wskazuje na nieobecność *S. aureus* i innych szczepów gronkowców koagulazo-dodatnich, posiadających białko A.

OGRANICZENIA TESTU

- Wyniki należy interpretować w połączeniu ze wszystkimi dostępnymi informacjami laboratoryjnymi i klinicznymi.
- Badać tylko czyste, pojedyncze kolonie, ponieważ mieszane kolonie mogą dawać błędne wyniki.
- Hodowle starsze od 30-godzinnych mogą dawać autoaglutynację.
- Podłoża o wysokiej zawartości soli, takie jak Mannitol Salt Agar, hamują wytwarzanie białka A, co może prowadzić do fałszywie ujemnych wyników.
- Szorstkie szczepy gronkowców mogą dawać fałszywie dodatnie reakcje. Szczepy te spotyka się rzadko i można je odróżnić od gładkich szczepów po morfologii kolonii. Obecność szczepu szorstkiego można potwierdzić przez zawieszenie kolonii w soli fizjologicznej i sprawdzenie, czy zawiesina jest gładka, czy nie.
- Włóknista reakcja na karcie może nie być prawdziwą reakcją dodatnią. Wymagane są dalsze testy biochemiczne.
- Pewne drożdżaki mogą dawać fałszywie dodatnie wyniki.
- Wszystkie koagulazo-dodatnie gronkowce reagują z MICROGEN® Staph i dlatego *S. aureus* nie można w ten sposób odróżnić od *S. intermedius* i *S. hyicus*. Jednak te dwa ostatnie gatunki rzadko izoluje się z materiałów od ludzi. Częściej izoluje się je od zwierząt lub są saprofitami.
- MICROGEN® Staph jest przeznaczony do identyfikacji wstępnej *S. aureus*. Identyfikację kolonii dających wyniki dodatnie powinno się potwierdzić testami biochemicznymi.

CHARAKTERYSTYKA PORÓWNAWCZA

Porównano MICROGEN® Staph z dobrze znanym dostępnym w handlu lateksowym testem aglutynacyjnym dla *S. aureus*. Badano przy pomocy obu testów 121 szczepów *S. aureus* i innych ściśle spokrewnionych szczepów gronkowców oraz 56 potencjalnie reagujących krzyżowo bakterii.

		MICROGEN® Staph		Ogółem
		(+)	(-)	
Komercyjny test lateksowy	(+)	63*	0	63
	(-)	0	114	114
Ogółem		63	114	177

Czułość: $63/63 = 100\%$

Swoistość: $114/114 = 100\%$

Zgodność: $177/177 = 100\%$

*Spośród 63 szczepów z tej grupy, 9 reagowało krzyżowo z obu testami. Były to szczepy *C. diversus* (1), *A. baumannii* (2), *P. stuartii* (1), *B. cereus* (2), *K. oxytoca* (1), paciorkowce (2).

Jednak wszystkie wyżej wymienione szczepy albo nie rosły, albo miały bardzo nietypową morfologię, kiedy hodowano je na podłożach wybiórczych dla gronkowców. W przypadku *B. cereus* aglutynacja była nietypowa (włóknista).

ODTWARZALNOŚĆ

Odtwarzalność w obrębie serii ustalono badając czułość i swoistość testów z jednej serii dla rozcieńczeń seryjnych antygenów szczepów referencyjnych i antygeny kontrolnego z zestawu oraz dla panelu materiałów bakteryjnych. Różni operatorzy wykonywali testy przy 3 różnych okazjach. Końcowe rozcieńczenia otrzymane dla antygenów szczepów referencyjnych i kontroli dodatniej oraz wyniki jakościowe dla panelu badanego były identyczne dla wszystkich trzech oznaczeń.

Odtwarzalność dla różnych serii badano oznaczając czułość i swoistość 3 serii produktu dla seryjnych rozcieńczeń antygenów szczepów referencyjnych i kontroli dodatniej oraz dla panelu materiałów bakteryjnych. Nie zaobserwowano rozbieżności pod względem końcowego miana dla 3 serii, a wyniki jakościowe dla panelu szczepów były zgodne w 100%.



ZABIAŁOZNIK 2

Dryspot Staphytect Plus DR 0100M

Test lateksowy aglutynacyjny do identyfikacji *Staphylococcus aureus* poprzez wykrywanie koaguly związanej (CF), białka A i głównych polisacharydów występujących w metycylinoopornych *Staphylococcus aureus* (MRSA).

ZASADA DZIAŁANIA

Dryspot Staphytect Plus jest lateksowym testem aglutynacyjnym przeznaczonym do identyfikacji gronkowców posiadających koagulazę związaną, białko A i polisacharydy z otoczek komórkowych, wykrytych w szczepach MRSA. Według danych literaturowych, w przybliżeniu 97% szczepów *Staphylococcus aureus* pochodzenia ludzkiego, posiada obie formy koaguly – związaną i pozakomórkową. Białko A wykrywane jest w około 95% ścian komórkowych tych szczepów i ma zdolność do wiązania immunoglobuliny G (IgG). Dryspot Staphytect Plus identyfikuje te cechy szczepów gronkowcowych przez użycie barwionych na niebiesko cząsteczek lateksu opłaszczonych fibrynogenem krwi ludzkiej oraz immunoglobuliną króliczą IgG, łącznie ze specyficznymi poliklonalnymi przeciwciałami przeciwko otoczkom polisacharydowym MRSA. W wyniku działania koaguly związanej na fibrynogen i/lub wiązania białka A i/lub polisacharydów z IgG następuje łatwo zauważalna aglutynacja cząsteczek lateksu.

Odczynnik jest naniesiony w formie suchej na kartonik reakcyjny.

W czasie mieszania odczynnika naniesionego na kartonik z koloniami *Staphylococcus aureus* zawieszonymi w roztworze soli fizjologicznej, zachodzi szybka aglutynacja w wyniku reakcji między (i) fibrynogenem a koagulazą związaną, (ii) fragmentem Fc immunoglobuliny IgG a białkiem A (iii) specyficznymi przeciwciałami IgG i polisacharydami otoczkowymi. Aglutynacja może wystąpić z innymi gatunkami, które zawierają koagulazę związaną lub białko A np. z *Staphylococcus hyicus* lub *Staphylococcus intermedius*. Jeżeli żaden z wymienionych czynników nie występuje, aglutynacja nie nastąpi i uzyskany wynik będzie ujemny. Najczęściej spotykane izolaty koagulazo ujemne i białko A- ujemne to *Staphylococcus epidermidis*.

Zestaw testowy DR 100M zawiera:

4 koperty po 10 kartoników testowych, na każdym kartoniku zaznaczone są 3 pola testowe i 3 pola kontrolne. Razem 120 testów.

Plastikowy klips do zamykania otworzonych kopert.

Instrukcję.

Materiały wymagane nie będące w zestawie:

Sól fizjologiczna (0.85%)

Minutnik

Piпта lub zakraplacz (50 µl)

Sterylny ezy mikrobiologiczne

Odpowiedni dezynfektant

Kontrola dodatnia: szczep *Staphylococcus aureus* np. ATCC® 25923.

Kontrola ujemna: szczep *Staphylococcus epidermidis* np. ATCC® 12228.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Produkt przeznaczony tylko do diagnostyki in vitro.

Próbka badana może zawierać organizmy patogenne. Próbką operować z odpowiednią ostrożnością. Kartoniki, pipety itp. powinny być umieszczane w odpowiednim dezynfektancie.

PRZECHOWYWANIE I OTWIERANIE

Zestaw musi być przechowywany w temperaturze od 2 do 25°C. Jeżeli jest przechowywany w niskiej temperaturze, przed użyciem pozostawić koperty do osiągnięcia temperatury pokojowej, co zapobiega kondensacji wody na kartoniku. Odczynniki ulegają zniszczeniu i dają fałszywe wyniki gdy zaabsorbują wilgoć.

Kopertę rozciąć nożyczkami tuż poniżej zgrzewu.

Otworzyć kopertę i wyjąć potrzebną do natychmiastowego wykonania ilość testów (test należy wykonać w ciągu 10 minut), a następnie zamknąć kopertę dołączonym do zestawu klipsem. Gdy potrzebna jest mniejsza ilość testów, odciąć potrzebną ilość wzdłuż wskazanej na kartoniku linii, a pozostałą część kartonika umieścić w kopercie. Nie umieszczać użytych kartoników ponownie w kopertach.

W takich warunkach, test zachowa aktywność do do daty ważności umieszczonej na pudełku.

PROCEDURA KONTROLNA

Przy każdym użyciu testu należy przeprowadzić następującą procedurę kontrolną;

1. Kontrola dodatnia: użyć znany szczep *Staphylococcus aureus*, taki jak ATCC® 25923.

Postępować zgodnie z procedurą podaną w PROCEDURZE TESTU. Upewnić się, że aglutynacja pojawia się w ciągu 20 sekund.

2. Kontrola ujemna: użyć znanego szczepu *Staphylococcus epidermidis*, taki jak ATCC® 12228. Postępować zgodnie z procedurą podaną w PROCEDURZE TESTU. Upewnić się, że odczynnik pozostaje gładki i bez aglutynacji w ciągu 20 sekund.

Nie używać testu jeżeli reakcje ze szczepami są nieprawidłowe.

WAŻNE UWAGI DO PROCEDURY

Nie dotykać pól reakcyjnych na kartonikach, co może spowodować zanieczyszczenie odczynnika i błędne reakcje.

W bardzo wilgotnej atmosferze, nie pozostawiać otwartych kopert na dłużej niż 2 minuty.

Nie nakładać kropli soli fizjologicznej bezpośrednio na suche kropelki lateksu.

Klips zamykający może być użyty wielokrotnie.

Test przechowywać z dala od światła słonecznego i bezpośredniego źródła ciepła.

Upewnić się, że pobrano odpowiednią ilość materiału z powierzchni pożywki; niewystarczająca ilość może dawać fałszywie ujemne wyniki.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBK

Pobieranie, przechowywanie i transport próbek powinien odbywać się zgodnie ze standardowymi procedurami.

Gram-dodatnie, katalazo-dodatnie kolonie mogą być pobierane do badania z następujących pożywek:

Agar Krwawy, Nutrient Agar, Tryptone Soya Agar, Tryptone Soya Agar z 5% krwi, Mannitol Salt Agar, Columbia Blood Agar, Columbia CNA Agar, Mueller-Hinton Agar z 5% krwi, Baird-Parker Agar, CLED Medium, ISO Sensitest Agar, ISO Sensitest Agar z 5% krwi, Oxacillin Resistance Screening Agar (ORSA).

Poleca się używanie świeżych, całonocnych hodowli (18-36 godzinna inkubacja). Skłonność kolonii do autoaglutynacji wzrasta po przekroczeniu czasu inkubacji powyżej rekomendowanych 36 godzin.

Pożywki selektywne takie jak Baird Parker Agar i Chapman mogą dawać słabo widoczne reakcje i nietypowe reakcje zarówno dodatnie jak i ujemne. Potwierdzenia należy wykonywać po przesiewie na pożywki nieselektywne.

PROCEDURA DLA DR100M:

1. Otworzyć jedną kopertę z kartonikami testowymi.
2. Wyjąć jeden z kartoników testowych z koperty, a kopertę szczelnie zamknąć (np. klipssem).
3. Nanieść po 1 kropli soli fizjologicznej (50µl) na małe kółeczko w polu testowym i polu kontrolnym tak, aby kropelka nie stykała się z odczynnikami lateksowymi.
4. Używając sterylnej ezy pobrać 5 kolonii wyhodowanych na pożywce i dobrze wymieszać z kroplą soli fizjologicznej. Upewnić się, że powstała zawiesina jest gładka.
5. Za pomocą ezy rozprowadzić sporządzoną zawiesinę kolonii z suchym lateksem (cztery niebieskie suche kropelki) po całej powierzchni pola testowego. Opalić ezę lub umieścić w dezynfektancie.
6. Używając osobnej ezy czynność powtórzyć również na polu kontrolnym.
7. Obserwować aglutynację poruszając kartonik testowy ruchem okrężnym przez co najmniej 20 sekund. Nie używać szkła powiększającego.
8. Po zakończonym teście umieścić kartonik w płynie dezynfekcyjnym.

ODCZYT I INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wynik Dodatni

Wynik jest dodatni, jeżeli aglutynacja niebieskich cząsteczek lateksu pojawi się w ciągu 20 sekund w polu testowym, przy braku aglutynacji w polu kontrolnym. Taki wynik wstępnie kwalifikuje szczep do *Staphylococcus aureus*.

Wynik Ujemny

Wynik jest ujemny, jeżeli nie pojawi się aglutynacja, a niebieska zawiesina pozostaje gładka w ciągu 20 sekund na obu polach. To wstępnie identyfikuje szczep jako nie należący do gatunku *Staphylococcus aureus*.

Wynik Niejednoznaczny

Słabe ziarnienie odczynnika lateksowego w polu testowym przy braku zmian w polu kontrolnym powinno być interpretowane jako wynik niejednoznaczny. Szczepy powinny być zbadane ponownie po przesianiu na pożywki nieselektywne.

Wynik nie do interpretacji

Wynik testu nie nadaje się do interpretacji jeżeli w polu kontrolnym wystąpiła aglutynacja. Wskazuje to na zdolność do autoaglutynacji badanej hodowli.

Ziarniste lub Włókniste Reakcje

Czasami pojawiają się reakcje ziarniste lub włókniste, spowodowane cechami właściwymi dla badanych materiałów. W przypadku zaobserwowania takiej reakcji, przy odczycie należy kierować się następującymi kryteriami:

Wynik jest dodatni w przypadku gdy tło w reakcji na polu testowym jest bardziej przejaśnione niż w reakcji na polu kontrolnym.

Wynik jest **ujemny** kiedy nie ma różnicy między przejaśnieniem tła w obu polach.

Zmiany pojawiające się po 20 sekundach nie należy brać pod uwagę.

OGRANICZENIA

1. Tendencja do autoaglutynacji kolonii wzrasta po przekroczeniu rekomendowanych 36 godzin inkubacji hodowli.
2. Przeciwciała zastosowane w Staphytest Plus są specjalnie dobierane pod kątem uniknięcia potencjalnych reakcji krzyżowych z antygenami koagulazoujemnych gronkowców.
3. Niektóre szczepy gronkowców inne niż *Staphylococcus aureus*, szczególnie *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus schleiferi* oraz *Staphylococcus haemolyticus*^{11,12,13,14} mogą dawać wynik dodatni w teście na koagulazę i/lub w szybkich procedurach lateksowych. Jeżeli jest to niezbędne, szczepy te mogą być poddane identyfikacji biochemicznej np. poprzez określenie aktywności PYRazy (Oxoid O.B.I.S. PYR ID0580). *Staphylococcus aureus* oraz *Staphylococcus hyicus* będzie PYRazo-ujemny, a wszystkie pozostałe szczepy, wymienione powyżej PYRazo-dodatnie. *Staphylococcus hyicus* oraz *Staphylococcus intermedius* rzadko odnotowywane są w laboratoriach klinicznych.
4. Gronkowce izolowane z próbek moczu dające słabe reakcje dodatnie z Staphytest Plus mogą należeć do *Staphylococcus saprophyticus*. Dalsza identyfikacja takich izolatów musi obejmować testy biochemiczne oraz określenie czułości na nowobiocynę (*Staphylococcus saprophyticus* jest oporny na nowobiocynę).
5. Niektóre streptokoki i prawdopodobnie inne organizmy posiadające czynniki wiążące immunoglobulinę lub plazmę, mogą reagować z odczynnikiem lateksowym, a także niektóre gatunki takie jak *Escherichia coli* zdolne są do niespecyficznego aglutynacji cząsteczek lateksu. Aby uniknąć niespecyficznego reakcji, należy wykonać barwienie Grama tak, aby badać tylko typowe gronkowce.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Określenie charakterystycznych parametrów testu Oxoid Dryspot Staphytest Plus było wykonane z zastosowaniem danych uzyskanych w trzech ośrodkach klinicznych. Ogólna liczba 750 hodowli przebadana została z zastosowaniem testu próbówkowego na koagulazę (złoty standard), barwienia metodą Grama i za pomocą szybkiego testu do identyfikacji *S. aureus*. Wyniki podano poniżej.

Izolaty kliniczne

Metycylinooporne *S. aureus* (MRSA)

Użyto 168 świeżych hodowli *S. aureus* (MRSA) opornych na jeden lub kilka antybiotyków. Dryspot Staphytest Plus prawidłowo zidentyfikował 167 tych izolatów. Czułość Dryspot Staphytest Plus dla tej grupy hodowli MRSA wynosi 99.4%.

Metycylino- wrażliwe *S. aureus* (MSSA)

Użyto 300 świeżych hodowli *S. aureus* w laboratoriach referencyjnych. Dryspot Staphytest Plus prawidłowo zidentyfikował 299 tych izolatów. Czułość Dryspot Staphytest Plus dla tej grupy hodowli MSSA wynosi 99.7%.

Inne gronkowce

Przebadano 287 świeżych izolatów gronkowców innych niż *S. aureus*. Wśród nich, 6 izolatów dało wynik nie do interpretacji z powodu autoaglutynacji. Dla pozostałych 276 izolatów, Dryspot Staphytest Plus dał wynik ujemny dla 264 izolatów.

Czułość Dryspot Staphytest Plus dla tej grupy gronkowców nie - *S. aureus* wynosi 95,7%.

Ponadto porównano działanie Dryspot Staphytest Plus z testem próbówkowym na koagulazę z izolatami *S. aureus*. Czułość wyniosła 99.6% a specyficzność 95.7%.

M47 MICROGEN®Strep**PRZEZNACZENIE TESTU**

MICROGEN®Strep jest szybkim testem szkiełkowym aglutynacji lateksowej do typowania paciorkowców z podłoży stałych do grup A, B, C, D, F i G wg Lancefield.

Większość szczepów paciorkowców izolowanych z zakażeń u ludzi posiada antygeny swoiste grupowo. Identyfikacja szczepów polega na ekstrakcji i charakterystyce tych antygenów z organizmów z rosnących hodowli. System do grupowania paciorkowców zawiera odczynnik enzymatyczny do szybkiej ekstrakcji antygenów wielocukrowych oraz serię aglutynacyjnych odczynników lateksowych swoistych dla grup A, B, C, D, F i G w celu szybkiego wykrycia i identyfikacji wyekstrahowanych antygenów.

Produkt przeznaczony jedynie do użytku profesjonalnego.

ZASADA TESTU

Zestaw zawiera 6 buteleczek z cząsteczkami lateksu indywidualnie uczulonymi przeciwciałami króliczymi swoistymi dla jednego z wielocukrowych antygenów paciorkowcowych z grupy A, B, C, D, F lub G. Kolonie paciorkowcowe pobrane z płytek agarowych inkubuje się z roztworem enzymu, aby wyekstrahować antygen. Mieszanina ekstrakt/antygen jest badana na karcie reakcyjnej z 6 zawieszinami pokrytych przeciwciałami cząsteczek lateksowych, każdej swoistej dla jednej z grup A, B, C, D, F lub G. W obecności antygeny homologiczne cząsteczki jednej z zawieszin będą tworzyć agregat, dając widoczną aglutynację, w przeciwieństwie do innych zawieszin, które pozostają jednorodne.

SKŁAD TESTU

Każdy zestaw zawiera odczynniki wystarczające dla 50 testów. Data ważności każdego odczynnika znajduje się na naklejce na buteleczce.

M47a REAG A: 2,5 ml

Zawiera cząsteczki lateksu uczulone króliczymi przeciwciałami przeciw paciorkowcom z grupy A w buforze ze stabilizatorem i 0,099% azydkiem sodowym jako konserwantem.

M47b REAG B: 2,5 ml

Zawiera cząsteczki lateksu uczulone króliczymi przeciwciałami przeciw paciorkowcom z grupy B w buforze ze stabilizatorem i 0,099% azydkiem sodowym jako konserwantem.

M47c REAG C: 2,5 ml

Zawiera cząsteczki lateksu uczulone króliczymi przeciwciałami przeciw paciorkowcom z grupy C w buforze ze stabilizatorem i 0,099% azydkiem sodowym jako konserwantem.

M47d REAG D: 2,5 ml

Zawiera cząsteczki lateksu uczulone króliczymi przeciwciałami przeciw paciorkowcom z grupy D w buforze ze stabilizatorem i 0,099% azydkiem sodowym jako konserwantem.

M47f REAG F: 2,5 ml

Zawiera cząsteczki lateksu uczulone króliczymi przeciwciałami przeciw paciorkowcom z grupy F w buforze ze stabilizatorem i 0,099% azydkiem sodowym jako konserwantem.

M47g REAG G: 2,5 ml

Zawiera cząsteczki lateksu uczulone króliczymi przeciwciałami przeciw paciorkowcom z grupy G w buforze ze stabilizatorem i 0,099% azydkiem sodowym jako konserwantem.

M47p KONTROLA +: 1,0 ml

Dodatnia kontrola, zawierająca inaktywowany poliwalentny ekstrakt antygenowy dla grup A, B, C, D, F i G, zakonserwowany 0,099% azydkiem sodowym.

M47x ENZ: 2 x 10 ml

Liofilizowany enzym ekstrakcyjny

Jednorazowe karty reakcyjne i jednorazowe pałeczki do mieszania

DODATKOWE MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIE WCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

- czy bakteriologiczne
- szklane lub plastikowe próbki
- pipeta do odmierzenia objętości 0,4 ml
- łaźnia wodna nastawiona na 37°C
- zakraplacze do próbek lub pipetki pasterowskie
- minutnik laboratoryjny

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. MICROGEN®Strep jest przeznaczony wyłącznie do użytku *in vitro*.
2. Nie używać odczynników po upływie daty ważności na naklejce na kartonowym opakowaniu zestawu.
3. Nie zanieczyszczać krzyżowo odczynników ani próbek.
4. Wykonywać test wyłącznie zgodnie z instrukcją dostarczoną z zestawem.
5. Nie pipetować próbek lub odczynników ustami.
6. Wszystkie próbki kliniczne i hodowle powinny być uważane za zakaźne i traktowane oraz niszczone zgodnie z zaakceptowaną procedurą.

7. Dekontaminację materiału zakaźnego można przeprowadzić podchlorynem sodowym w końcowym stężeniu 3% przez 30 min.
8. Odczynniki w tym zestawie zawierają 0,099% azydek sodowy jako konserwant, więc należy zachować ostrożność w obchodzeniu się z nimi. Azydek sodowy może reagować z ołowianą lub miedzianą instalacją kanalizacyjną, tworząc potencjalnie wybuchowe azydki metali. Po użyciu odczynników zalać dużą objętością wody, aby zapobiec osadzeniu się azydków.

PRZECHOWYWANIE

Przechowywać wszystkie odczynniki w temp. 2 - 8°C. Nie zamrażać. W tych warunkach odczynniki powinny nadawać się do użytku do upływu daty ważności na kartonie z zestawem. Enzym ekstrakcyjny jest stabilny przez 3 miesiące po rozpuszczeniu, jeżeli przechowywany jest w temp. 2 - 8°C. Aby przedłużyć czas ważności enzymu, można go rozlać do odpowiednich próbek w objętości 0,4 ml i przechowywać zamrożony w temp. -20°C lub poniżej, to będzie stabilny przez 6 miesięcy. Enzymu nie powinno się rozpuszczać i zamrażać więcej niż raz.

OZNAKI POGORSZENIA JAKOŚCI TESTU

Można podejrzewać pogorszenie jakości testu, jeżeli:

- Widoczne jest wyraźne wyklaczanie koloru z odczynników lateksowych i nie można go usunąć przez energiczne wytrząsanie buteleczki przez kilka sekund.
- Kontrola dodatnia lub enzym ekstrakcyjny stają się mętne lub tworzą się w nich osady.
- Dodatnia kontrola nie powoduje aglutynacji jednego lub więcej odczynników lateksowych w przepisany czas reakcji.
- Sam enzym ekstrakcyjny powoduje aglutynację jednego z odczynników lateksowych.

Odczynniki wykazujących oznaki pogorszenia jakości nie powinny się używać.

PRZYGOTOWANIE HODOWLI I PRÓBEK

Test jest przeznaczony do badania kolonii o wyglądzie i charakterze wzrostu paciorkowców po całonocnej hodowli na rutynowych podłożach laboratoryjnych. Szczegóły dotyczące pobierania i dalszego postępowania z materiałami oraz na temat wyboru, posiewania i inkubacji podłoży, zawarte są w podstawowych podręcznikach.

Kolonie można pobierać z płytek z pierwotną hodowlą, lub z czystych przesiewów, po upływie pierwszej doby po posianiu na podłoża.

Nie powinno się używać starych hodowli. Własności hemolityczne hodowli są ważną cechą diagnostyczną

i powinno się zaznaczyć, czy wzrost badanych bakterii pochodzi z podłoża z dodatkiem krwi.

KONTROLE

Kontrolę dodatnią powinno się przeprowadzać regularnie, aby upewnić się, że odczynniki dają prawidłowe wyniki.

Kontrola dostarczona jest w stanie gotowym do użycia i powinno się ją dodawać w miejsce ekstraktu z hodowli w procedurze badawczej. Kontrola dodatnia powinna dawać aglutynację z każdym z odczynników lateksowych. Jeżeli nie zachodzi aglutynacja, może to być oznaką inaktywacji odczynnika lateksowego.

Jeżeli potrzebna jest kontrola ujemna, powinno się dodać czysty enzym ekstrakcyjny w miejsce ekstraktu z hodowli w procedurze badawczej.

PROCEDURA BADAWCZA

Przed użyciem doprowadzić cały zestaw odczynników MICROGEN®Strep do temperatury pokojowej!

Dla każdego badanego szczepu:

1. Doprowadzić odczynniki lateksowe i kontrolę dodatnią do temperatury pokojowej.
2. Bezpośrednio przed użyciem rozpuścić enzym w butelce, dodając 10 ml wody destylowanej. Wymieszać delikatnie do zupełnego rozpuszczenia. Rozlać po 0,4 ml do małych próbek.
3. Pobrać cząstkę kolonii paciorkowcowe z powierzchni agaru i dokładnie zawiesić w próbówce z enzymem ekstrakcyjnym. Aby otrzymać najlepszy wynik, pobrać do ekstrakcji 4 lub 5 kolonii średniego rozmiaru lub ich ekwiwalent. Zbyt gęsta zawieszina w enzymie ekstrakcyjnym może powodować niespecyficzną aglutynację. Dla szczepów rosnących w postaci małych kolonii może być konieczne pobranie materiału wymazówką.
4. Inkubować próbówkę przez 10 do 15 min. w łaźni wodnej o temperaturze 37°C. Wstrząsnąć próbówkę po pierwszych 5 minutach inkubacji i wytrząsnąć energicznie przed badaniem, aby otrzymać jednolitą zawieszinę antygeny.

- Energicznie wytrząsać odczynniki lateksowe przez kilka sekund, aby otrzymać jednolitą zawiesinę. Dodać po 1 kropli każdego z odczynników lateksowych oddzielnie do sześciu kół na karcie reakcyjnej.
- Nanieść po 1 kropli dobrze wymieszanego ekstraktu (lub kontroli dodatniej) do 6 oddzielnych kół obok kropli odczynnika lateksowego.
- Wymieszać zawartość każdego koła używając oddzielnych patyczków i rozprowadzić płyn pokrywając całą powierzchnię koła. Nie używać tego samego patyczka do mieszania zawartości więcej niż jednego koła.
- Powoli i dokładnie kołysać i okręcać kartę reakcyjną w celu wymieszania odczynników przez maksymalnie 1 minutę.
- Sprawdzić, czy pojawiła się aglutynacja. Aglutynacja powinna być dobrze widoczna gołym okiem.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Kiedy po czasie 1 minuty cząsteczki lateksu aglutynują i powstają wyraźne grudki, wynik jest dodatni dla danej zawiesiny. Jeżeli ekstrakt zawiera dużą ilość antygeny, aglutynacja może być bardzo szybka i dawać duże grudki. Dla ekstraktów zawierających mniej antygeny, aglutynacja może zachodzić później i dawać mniejsze grudki, ale nie powinno być trudności z rozróżnieniem reakcji dodatniej i ujemnej.

Kiedy cząsteczki lateksu zachowują swój oryginalny mleczny wygląd, bez znaczącej agregacji, wynik jest ujemny dla tej zawiesiny. Ślady niewyraźnej agregacji powinny zostać zignorowane i uznane za wynik ujemny.

PRZEWIDYWANE WYNIKI

Kolonie z beta-hemolizą:

- Aglutynacja z pojedynczym odczynnikiem lateksowym wskazuje na grupę, do której należy badany szczep.

Powinno się wziąć pod uwagę testy uzupełniające, w szczególności:

- dla szczepów z grupy D, wykonać testy biochemiczne w celu rozróżnienia między *Enterococcus* sp. i paciorkowcami z grupy D (te pierwsze są względnie odporne na antybiotyki).
 - dla szczepów z grupy A, C lub G o małych koloniach należy przeprowadzić testy biochemiczne, aby potwierdzić identyfikację *S. milleri*/*S. anginosus*.
- Aglutynacja więcej niż jednego odczynnika lateksowego wskazuje, że może to być mieszany wzrost szczepów z różnych grup lub obecność szczepu, który posiada antygeny z różnych grup (np. pewne paciorkowce z grupy D, które posiadają również antygen grupowy G).
Należy wziąć pod uwagę:
 - Przesianie w celu otrzymania czystej izolacji i ponownego przeprowadzenia testu.
 - Dla szczepów posiadających antygeny grupowe D i G, wykonać testy biochemiczne, aby odróżnić enterokoki od gatunków innych paciorkowców z grupy D (szczepy *Enterococcus* z obu antygenami mogą być bardziej odporne na antybiotyki od posiadających tylko antygen D).
 - Aglutynacja zachodząca ze wszystkimi odczynnikami lateksowymi może wskazywać na zbyt gęstą zawiesinę w enzymie ekstrakcyjnym lub zanieczyszczenie badanego szczepu drobnoustrojem powodującym niespecyficzną aglutynację cząsteczek lateksowych (łatwo to zwykle stwierdzić po wyglądzie kolonii)
 - zgotować pozostałą resztę ekstraktu przez 2 - 3 minuty, schłodzić i ponownie oznaczyć – powinno to dać wyraźniejszy wynik.
 - powtórzyć test używając mniejszego inokulum w enzymie ekstrakcyjnym.
 - przesiać w celu otrzymania czystego szczepu, który można ponownie zbadać.
 - Jeżeli nie zachodzi żadna znacząca aglutynacja z odczynnikami lateksowymi, to albo w badanej próbce nie było antygenów paciorkowców z grupy A, B, C, D, F i G, albo były one w ilości poniżej zakresu czułości testu.
Powinno się podjąć następujące kroki:
 - ponownie przeprowadzić test z gęstszym inokulum, szczególnie jeżeli mogą to być paciorkowce z grupy D lub F.
 - jeżeli jest to konieczne, można zidentyfikować paciorkowce z beta-hemolizą przy pomocy testów biochemicznych.

Kolonie bez beta-hemolizy:

Agulutynacja z pojedynczym odczynnikiem lateksowym wskazującym na grupę B lub D wskazuje na wiarygodną identyfikację szczepu. Jeżeli w wyniku otrzymuje się grupę A, C, F lub G, metoda oznaczania może być nieodpowiednia i konieczne jest użycie innych metod identyfikacji.

Powinno się wziąć pod uwagę:

- jeżeli w wyniku otrzymano grupę D, należy rozróżnić testami biochemicznymi między enterokokami i paciorkowcami z grupy D (zob. wyżej).

- jakiegokolwiek inne kombinacje wyników powinny być interpretowane z użyciem dostarczonych powyżej informacji.

OGRANICZENIA TESTU

Wyniki powinno się interpretować w połączeniu z innymi dostępnymi informacjami klinicznymi i laboratoryjnymi. Dokładne wyniki zależą od użycia zawiesiny o odpowiedniej gęstości. Nie jest to ogólnie problemem, jednak pewne szczepy należące do grupy D posiadają niższe lub śladowe ilości antygeny grupowego, a kolonie pewnych szczepów z grupy F trudno pobrać z powierzchni podłoża. Jeżeli chodzi o szczepy z grupy D, można zwiększyć produkcję antygeny grupowego hodując paciorkowce na agarze z dodatkiem 0,5 do 1,0% glukozy. Dodatek ten może zaciemniać obraz hemolizy, ale można brać go pod uwagę w sytuacjach, kiedy ważne jest rozwiązanie problemów związanych z identyfikacją.

Wzrost szczepów dających małe kolonie można poprawić przez inkubację w atmosferze wzbogaconej w dwutlenek węgla.

Paciorkowce z grup Q, R i S mogą także posiadać wykrywalne poziomy antygeny grupowego D.

Antygeny identyczne z antygenami grupowymi paciorkowców opisano u licznych niespokrewnionych gatunków. Np. fałszywie dodatnie reakcje mogą zachodzić dla *Escherichia*, *Klebsiella* i *Pseudomonas*. Można te kolonie łatwo odróżnić po wyglądzie na podłożu i nie powinno to powodować wątpliwości związanych z identyfikacją paciorkowców.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Porównano zestaw MICROGEN®Strep z handlowo dostępnym zestawem lateksowym wiodącej firmy jako wzorcem pod względem grupowania paciorkowców, używając próbki kliniczne z licznych niezależnych miejsc. Wyniki pokazano w Tabeli 1.

Tabela 1: porównanie MICROGEN®Strep z Lateksem Wzorcowym pod względem grupowania paciorkowców.

	MICROGEN®Strep	
	+	-
Lateks wzorcowy	607	55
	-	24

Czułość: $607/662 = 92\%$

Wybiórczość: $24/24 = 100\%$

ODTWARZALNOŚĆ

Odtwarzalność dla tej samej serii oznaczono badając czułość dla każdego z lateksów z jednej serii przy 10 okazjach, wykonanych przez trzy różne osoby, na seryjnych rozcieńczeniach antygenów wzorcowych. Miano graniczne różniło się maksymalnie o jedno podwójne rozcieńczenie między oznaczeniami.

Odtwarzalność dla różnych serii oznaczono badając czułość i swoistość 10 serii produktu z seryjnymi rozcieńczeniami antygenów wzorcowych. Między seriami zróżnicowanie miana wynosiło maksymalnie jedno podwójne rozcieńczenie antygeny, a jakościowe oznaczenia pokrywały się w 100%.