

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Diagnostická souprava GP 24 představuje standardizovaný identifikační systém pro běžnou druhovou identifikaci Gram pozitivních tyčinek - korynebakterií, který využívá 24 - 26 miniaturizovaných biochemických testů a internetové databáze. Na konci návodu je uveden kompletní seznam všech mikroorganismů, pro které je souprava určena.

PRINCIP

Souprava GP 24 sestává z 24 jamek trojstripu mikrotitrační destičky v klasickém 96 jamkovém formátu obsahujících dehydratované substráty, přičemž GP 24 sp je ve formě trojstripů dělené - stripovatelné mikrotitrační destičky a GP 24 fp je ve formě nedělené - celé mikrotitrační destičky. Rekonstituce substrátů probíhá inokulací bakteriální suspenze. V průběhu inkubace dochází v důsledku metabolické aktivity mikroorganismů k barevným změnám v jednotlivých jamkách. Odečet výsledků testů probíhá vizuálně na základě barevné stupnice nebo barevného vyjádření popsaného v pracovním návodu. Výsledky identifikace se odečtou z vyhodnocovací tabulky nebo za pomoci vyhodnocovacího softwaru, který najdete na www.diagnostics.sk/idmicro.

OBSAH SOUPRAVY - 40 testů (sp) / 100 testů (fp)

- 10 / 25 mikrotitračních destiček GP 24
- 40 / 100 výsledkových formulářů
- 10 / 25 inkubačních sáčků
- 1 příbalový leták

POTŘEBNÁ, ALE NEDODÁVANÁ ČINIDLA A MATERIÁL

Činidla:

- Nepufrovaný fyziologický roztok 3,5-5 ml
- Parafinový olej (Ref. 3001)
- PHS reagent (Ref. 3008)
- NIT reagent (Ref. 3005)
- VP (Ref. 2004) a VP reagent (Ref. 3004)
- Zn (Ref 5001)
- PYR (Ref. 2004) a PYR reagent (Ref. 3004)
- Identifikační software (na stránkách společnosti)

Materiál:

- Pipety
- Tampony, kličky, kahan, zkumavky a další základní vybavení mikrobiologické laboratoře

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro* a k mikrobiologické kontrole
- Pouze pro profesionální použití.
- Dodržujte přesně pracovní návod!
- Veškeré vzorky a inokulované produkty se musí považovat za potenciálně infekční a je třeba respektovat při manipulaci s nimi obvyklá bezpečnostní opatření dle předpisů platných v každé zemi.
- Nepoužívejte produkt po datu expirace.
- Před použitím zkontrolujte, zda je obal nepoškozen. Poškozené soupravy nepoužívejte.

Při interpretaci výsledků je nutno vzít v úvahu anamnézu pacienta, zdroj vzorku, morfologii kolonie, mikroskopickou morfologii kmene, a pokud je to nezbytné, výsledky všech dalších provedených testů, zejména výsledků antiagrogramu.

PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ

Diagnostické soupravy se dodávají ve vícevrstvých sáčcích na bázi hliníku a organických polymerů. Součástí každého sáčku je dodatkové silikagelové sušidlo. Uchovávejte soupravy při teplotě +2 až +25°C. Expirace je uvedena na každém balení.

Po otevření uložte nepoužitý zbytek mikrotitrační destičky do přiloženého hliníkového sáčku vč. originálního silikagelového sušidla, sáček pečlivě uzavřete a uložte do chladničky. Takto lze skladovat produkt po dobu 2 týdnů (nebo do data expirace v případě, že nastane dříve).

VZORKY

Mikroorganismy, které mají být identifikovány izolujte z vhodného neselektivního kultivačního média (např. krevní agar apod.) podle standardních mikrobiologických technik. Z čisté kultury proveďte Gramovo barvení a mikroskopii. Proveďte test průkazu katalázy. Konfirmované izoláty identifikujte na soupravě GP 24.

PRACOVNÍ POSTUP

Příprava inokula

- Použijte zkumavku nepufrovaného sterilního fyziologického roztoku o objemu 3,5 – 5 ml.
- Bakteriologickou kličkou nebo tamponem naberte z čisté a dobře narostlé 18 - 24 hod. kultury několik dobře izolovaných kolonií.
- Zákal řádně homogenizované suspenze musí odpovídat hustotě zákalu 3 McF. Tato suspenze se musí použít ihned po přípravě.

TIP: V případě potřeby proveďte ověření čistoty inokula křížovým roztěrem stejnou kličkou nebo tamponem, kterým jste připravovali suspenzi.

Takto připravená Petriho miska může sloužit k provedení doplňkových testů následující den!

Příprava mikrotitrační destičky

Připravte mikrotitrační destičky
Zaznamenejte na stripy čísla vyšetřovaných kultur

TIP: V případě prvního použití soupravy GP 24 sp vyjměte nepotřebné stripy a vložte do hliníkového sáčku se sušidlem a pečlivě uzavřete. Pro další použití si ponechte rámeček mikrotitrační destičky.

Inokulace

- Inokulujte 0,1 ml řádně homogenizované suspenze do každé jamky monostripu.
- Testy URE a ARG (jamky H1 a H2) překryjte třemi kapkami parafinového oleje.

Inkubace

- Vložte mikrotitrační destičku do přiloženého PE sáčku, jehož konec zahněte pod destičku – zabráníte tím vysychání bakteriální suspenze.
- Inkubujte při běžné atmosféře a teplotě 35 ± 2 °C po dobu 18 - 24 hodin.

TIP: pro optimální průběh inkubace zajistěte v inkubátoru vyšší vlhkost vložením např. kádinky s čistou vodou nebo provádějte inkubaci při řízené úrovni vlhkosti.

HODNOCENÍ A INTERPRETACE

Zadejte výsledek testu CAT.

Bez zadání výše uvedených parametrů nebude identifikace vzorku provedena.

Po době inkubace testy odečtete za pomoci odečítací tabulky, barevné stupnice nebo výsledků kontrolních kmenů.

Testy GLR/PHS a bGL/HIP jsou bifunkční a po odečtení primární reakce lze získat zakapáním příslušnými činidly druhý výsledek z již odečtené jamky mikrotitrační destičky.

V případě potřeby proveďte potřeby následující**bifunkční testy: GLR/PHS a bGL/HIP**

Jamka A2 -po odečtení primární reakce přikápněte 1 - 2 kapky PHS reagent a vyhodnoťte test PHS.

Jamka H3 – přikápněte 2 kapky NIT – reagentu a vyhodnoťte.

Jamka A3 - po odečtení primární reakce přikápněte 2 – 3 kapky HIP reagent a do deseti minut vyhodnoťte test HIP.

- Zapište výsledek bifunkčního testu do formuláře pro odečet výsledků nebo do vyhodnocovacího software.
- Zaznamenejte výsledek β-hemolýzy!

IDENTIFIKACE

Výsledek identifikace se získá pomocí:

- identifikační tabulky
- identifikačního softwaru

Identifikace pomocí identifikační tabulky:

Srovnajte výsledky testů a proveďte vyhodnocení dle výsledků testů uvedených v tomto návodu na straně 4.

Identifikace pomocí identifikačního software:

Zadejte výsledky jednotlivých testů. V případě, že nelze některý z testů hodnotit je možné ho v programu vynechat. Software umožňuje vkládání dodatkových testů a tím i zvýšení identifikační účinnosti. Software je pro zákazníky volně k dispozici na stránkách společnosti.

KONTROLA KVALITY

Kvalita vyráběných diagnostických souprav se systematicky kontroluje. Chemikálie jsou nakupovány pouze od certifikovaných firem a kvalita těchto chemikálií je ověřena doloženým analytickým certifikátem. Funkčnost souprav jsou mimo jiné testována na kontrolních sbírkových kmenech, kontrolována a testována je také přítomnost bakteriální kontaminace. Soupravy jsou podrobovány zátěžovým testům při zvýšené teplotě a z každé šarže jsou ukládány referenční vzorky pro správné posouzení případných pozdějších reklamací.

PRO POTŘEBU VLASTNÍHO OVĚŘENÍ FUNKČNOSTI SOUPRAVY DOPORUČUJEME POUŽÍT NÁSLEDUJÍCÍ KONTROLNÍ KMENY:

Kontrolní kmen <i>Enterococcus faecalis</i>	CCM 4224 / ATCC 29212	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	bGA	
		-	+	+	+	+	-	-	-	
		ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GLR	PHS
		+	+	+	+	+	+	+	-	-
		NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	bGL	HIP
		-	+	-	+	+	-	+	+	-

Kontrolní kmen <i>Staphylococcus aureus</i>	CCM 3953 / ATCC 25923	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	bGA	
		+	+	-	+	+	-	-	-	
		ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GLR	PHS
		+	+	+	-	+	-	V	-	+
		NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	bGL	HIP
		+	-	-	+	+	-	V	+	+

Kontrolní kmen <i>Staphylococcus cohnii</i> <i>spp. urealyticus</i>	CCM 4296 / ATCC 49331	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	bGA	
		+	-	-	+	+	-	-	+	
		ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GLR	PHS
		-	+	+	-	+	-	-	+	-
		NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	bGL	HIP
		-	-	-	-	-	-	-	-	-

Kontrolní kmen <i>Klebsiella pneumoniae</i>	CCM 5852 / ATCC 13882	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	bGA	
		+	+	+	+	+	+	+	+	
		ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GLR	PHS
		-	+	+	+	+	+	V	-	+
		NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	bGL	HIP
		+	+	+	+	+	+	V	V	-

ATCC: American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

CCM: Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita Brno, Kamenice 5, 625 00 Brno, tel. +420549491430, e-mail: ccm@sci.muni.cz

Profily získané po 24 hodinách inkubace po kultivaci na krevním agaru. Kontrolní kmeny slouží pouze k ověření funkčnosti jednotlivých testů, nikoliv pro kontrolu správnosti identifikace.

OMEZENÍ METODY A NEJČASTĚJŠÍ PŘÍČINY NEÚSPĚCHU IDENTIFIKACE

- Diagnostická souprava GP 24 je určena pouze k identifikaci bakterií uvedených v tomto návodu.
- Lze použít pouze čistou kulturu vyšetřovaného mikroorganismu.
- Testy nebyly převrstveny parafinovým olejem.
- Kontaminace jamek inokulem z dalšího stripu.
- Jedná se o atypický kmen.
- Nedodržení některého bodu pracovního návodu.

CHARAKTERISTIKY STANOVENÍ

Bylo testováno 97 sbírkových kmenů a kmenů klinického původu, ale i veterinárních kmenů patřících k druhům zahrnutých v databázi:

- 77 % kmenů bylo správně identifikováno (s doplňkovými testy nebo bez nich).
- 23 % kmenů nebylo identifikovaných nebo bylo identifikovaných nesprávně.

LIKVIDACE ODPADU

S materiálem zacházejte jako s potencionálně infekčním agens. Odpad likvidujte dle interních operačních postupů a směrnic v souladu s legislativou své země.

ODEČÍTACÍ TABULKA

JAMKA – 1. řádek	ZKRATKA TESTU	NÁZEV TESTU	VÝSLEDKY	
			POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ
H	URE	Urea	růžová	žlutá
G	MLT	Maltóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
F	SOR	Sorbitol	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
E	LAC	Laktóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
D	FRU	Fruktóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
C	ARA	Arabinóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
B	RAF	Rafinóza	žlutá / šedofialová	fialová
A	bGA	b-galaktosidáza	Žlutá	Zákal suspenze
JAMKA – 2. řádek	ZKRATKA TESTU	NÁZEV TESTU	POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ
H	ARG	Arginin	Červenofialová / červená	Žlutá, žlutooranžová
G	MAN	Manitol	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
F	TRE	Trehalóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
E	CEL	Celobióza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
D	MNS	Manóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
C	RIB	Ribóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
B	MLZ	Melezitóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
A	GLR	b-glukuronidáza	Žlutá	Zákal suspenze
A´	PHS	Alkalická fosfatáza	Červená / růžová	Zákal suspenze
JAMKA – 3. řádek	ZKRATKA TESTU	NÁZEV TESTU	POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ
H	NIT	Nitráty	tmavě růžová	Zákal suspenze
G	ESL	Eskulin	hnědá	Běžová, světle hnědá
F	MLB	Melibióza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
E	SUC	Sacharóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
D	GAL	Galaktóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
C	XYL	Xylóza	žlutá / šedožlutá	fialová / šedofialová
B	NAG	N – acetyl-glukosaminid	Žlutá	Zákal suspenze
A	bGL	b-glukosidáza	Žlutá	Zákal suspenze
A´	HIP	Hipurát	modrá	Zákal suspenze

Identifikační tabulka	CAT	1. řádek										2. řádek										3. řádek									
		H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A	A'	H	G	F	E	D	C	B	A	A'				
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	BGA	ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GIR	PHS	NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	BGL	HIP				
<i>Actinomyces neui</i> ssp. <i>anitratus</i>	+	-	v	v	-	v	v	v	+	v	-	v	v	v	(+)	v	-	v	-	v	-	v	-	v	-	v	v				
<i>Actinomyces neui</i> ssp. <i>neui</i>	+	-	(+)	v	-	v	v	v	+	v	(+)	v	v	v	(+)	v	-	v	-	v	(+)	v	(-)	-	v	v					
<i>Actinomyces radingae</i>	-	-	v	v	-	v	v	v	+	v	-	v	v	v	v	-	-	-	-	+	v	-	v	+	v	v					
<i>Actinomyces turicensis</i> (NAG -) / <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> (NAG +)	-	-	-	v	-	v	v	v	-	v	-	v	v	v	-	v	-	-	-	v	-	v	-	-	v	v					
<i>Trueperella bernardiae</i> / <i>Gardnerella vaginalis</i> (bHEM +)	-	-	+	v	-	v	v	v	v	-	v	v	v	+	v	-	-	-	-	v	-	v	-	-	v	(+)					
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	-	-	+	v	+	+	v	v	(+)	(-)	-	+	v	v	(+)	v	(-)	+	-	-	v	v	v	-	(+)	v	-				
<i>Trueperella pyogenes</i>	-	-	+	v	+	+	v	v	+	v	-	v	v	v	+	v	+	(+)	-	-	v	v	v	+	v	v	-				
<i>Arthrobacter</i> spp.	+	-	-	v	-	v	v	v	v	v	-	v	v	v	-	v	v	v	(-)	(-)	v	-	v	-	(-)	v	v				
<i>Aureobacterium</i> spp. / <i>Corynebacterium aquaticum</i>	+	-	-	v	-	-	v	v	v	v	-	-	v	v	-	v	-	v	(-)	+	v	-	v	-	(+)	v	-				
<i>Cellulomonas</i> spp. / <i>Microbacterium</i> spp.	+	-	+	v	(-)	+	v	v	(+)	v	v	v	v	(-)	v	-	(-)	v	+	v	+	v	(+)	(+)	v	v					
<i>Corynebacterium accolens</i>	+	-	-	v	-	+	v	v	-	v	-	-	v	v	+	v	-	-	+	-	v	(-)	v	-	-	v	(-)				
<i>Corynebacterium afermentans</i> / <i>Coyleae</i>	+	-	-	v	-	-	v	v	-	v	-	-	v	v	-	v	-	+	-	-	v	-	v	-	-	v	v				
<i>Corynebacterium auris</i> / <i>Turicella otitidis</i>	+	-	-	v	-	-	v	v	-	v	-	-	v	v	-	v	-	+	-	-	v	-	v	-	-	v	-				
<i>Corynebacterium bovis</i>	+	v	-	v	-	+	v	v	+	v	-	v	v	v	-	v	-	+	-	-	v	-	v	-	-	v	+				
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ssp. <i>gravis</i>	+	-	+	v	-	+	v	v	-	v	-	-	v	v	+	v	-	(-)	+	-	v	-	v	-	-	v	-				
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ssp. <i>mitis</i> / <i>belfanti</i>	+	-	+	v	-	+	v	v	-	v	-	-	v	v	+	v	-	-	v	-	v	-	v	-	-	v	-				
<i>Corynebacterium falsenii</i>	+	+	(-)	v	-	v	v	v	-	v	-	+	v	v	+	v	-	+	-	-	v	-	v	-	-	v	-				
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i>	+	v	(-)	v	-	v	v	v	(-)	v	-	v	v	v	v	v	+	-	v	v	+	v	(-)	-	v	-					
<i>Corynebacterium</i> group <i>F_1</i>	+	+	+	v	-	v	v	v	-	v	-	v	v	v	(-)	v	-	-	(+)	-	v	+	v	-	-	v	v				
<i>Corynebacterium</i> group <i>G</i>	+	-	v	v	-	v	v	v	-	v	-	v	v	v	+	v	-	+	(-)	-	v	+	v	-	-	v	v				
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	+	-	(-)	v	-	-	v	v	-	v	-	-	v	v	(+)	v	-	+	-	-	v	-	v	-	-	v	(-)				
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	+	+	+	v	-	+	v	v	-	v	-	v	v	v	+	v	-	-	(+)	+	v	+	v	-	-	v	+				
<i>Corynebacterium lipophiloflavum</i> / <i>urealyticum</i>	+	+	-	v	-	-	v	v	-	v	-	-	v	v	-	v	-	+	-	-	v	-	v	-	-	v	(-)				
<i>Corynebacterium macginleyi</i>	+	-	-	v	-	(-)	v	v	-	v	-	-	v	v	(+)	v	-	+	+	-	v	+	v	-	-	v	v				
<i>Corynebacterium propinquum</i>	+	v	-	v	-	v	v	v	-	v	-	v	v	v	-	v	-	v	(+)	-	v	-	v	-	-	v	v				
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	+	+	-	v	-	-	v	v	-	v	-	-	v	v	-	v	-	v	+	-	v	-	v	-	-	v	+				
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	+	+	(+)	v	-	+	v	v	-	v	-	-	v	v	+	v	-	v	-	-	v	-	v	-	-	v	-				
<i>Corynebacterium renale</i> group	+	+	-	v	-	+	v	v	-	v	-	v	v	v	+	v	+	-	-	-	v	-	v	-	-	v	+				
<i>Corynebacterium riegei</i>	+	+	+	v	-	-	v	v	-	v	-	+	v	v	+	v	-	(+)	-	-	v	-	v	-	-	v	(-)				
<i>Corynebacterium singulare</i>	+	+	+	v	-	v	v	v	-	v	-	-	v	v	-	v	-	+	-	-	v	+	v	-	-	v	(-)				
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	+	+	+	v	-	+	v	v	-	v	-	(-)	v	v	+	v	-	+	-	-	v	(-)	v	-	-	v	+				
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	+	+	-	v	-	-	v	v	-	v	-	-	v	v	-	v	-	v	-	-	v	-	v	-	-	v	(-)				
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	+	-	v	-	-	+	-	-	-	-	-	-	(-)	v	-	-	+	v	-	-	v	(-)	-	-	v	v					
<i>Corynebacterium striatum</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	(+)	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-				
<i>Corynebacterium striatum</i> / <i>amycolatum</i>	+	(-)	(+)	v	-	+	v	v	-	v	-	(-)	v	v	v	v	-	+	v	-	v	(+)	v	-	-	v	v				
<i>Dermabacter hominis</i>	+	-	+	v	+	v	v	v	+	v	-	+	v	v	+	v	-	(+)	-	+	v	+	v	(-)	+	v	-				
<i>Listeria grayi</i>	+	-	+	v	+	+	v	v	-	v	+	+	v	v	+	v	-	-	v	+	v	(-)	v	-	+	v	-				
<i>Listeria innocua</i>	+	-	+	v	(+)	+	v	v	-	v	-	+	v	v	-	v	-	(+)	-	+	v	v	v	-	+	v	+				
<i>Listeria monocytogenes</i> (bHEM +) / <i>innocua</i> (bHEM -)	+	-	+	v	v	+	v	v	-	v	-	+	v	v	-	v	-	+	-	+	v	-	v	-	+	v	+				
<i>Listeria ivanovii</i> ssp. <i>ivanovii</i> (RIB +) / <i>londoniensis</i> (RIB -)	+	-	(+)	v	+	+	v	v	-	v	-	(+)	v	v	+	v	-	+	-	+	v	v	v	+	(+)	v	+				
<i>Listeria seeligeri</i>	+	-	+	v	(-)	+	v	v	-	v	-	+	v	v	(-)	v	-	v	-	+	v	-	v	+	(+)	v	v				
<i>Listeria welshimeri</i>	+	-	(+)	v	v	+	v	v	-	v	-	+	v	v	(-)	v	-	v	-	+	v	(-)	v	+	(+)	v	v				
<i>Oerskovia xanthineolytica</i>	+	-	+	v	(-)	v	v	v	+	v	-	v	v	v	+	v	-	+	+	+	v	+	v	+	+	v	v				
<i>Rhodococcus</i> spp.	+	(-)	-	v	-	-	v	v	-	v	-	-	v	v	-	v	-	+	v	v	v	-	v	-	-	v	v				
<i>Rothia dentocariosa</i>	+	-	+	v	-	+	v	v	-	v	-	+	v	v	-	v	-	(-)	+	+	v	+	v	-	-	v	(-)				

Vysvětlivky: + = 90 – 99 %; (+) = 66 – 89 %; v = 34 – 65 %; (-) = 11 – 33 %; - = 1 – 10 %