

**SÚHRN A VYSVETLENIE**

Diagnostická súprava GP 24 predstavuje za predpokladu použitia špeciálneho suspenzného média štandardizovaný identifikačný systém pre bežnú druhovú identifikáciu anaeróbnych baktérií, ktorý využíva 24 - 26 miniaturizovaných biochemických testov a internetovú databázu. Na konci návodu je uvedený kompletný zoznam všetkých mikroorganizmov, pre ktoré je súprava určená.

**PRINCÍP**

Súprava GP 24 pozostáva z 24 jamiek trojstripu mikrotitračnej doštičky v klasickom 96 jamkovom formáte obsahujúcich dehydratované substráty, pričom GP 24 sp je vo forme trojstripu delenej - stripovateľnej mikrotitračnej doštičky a GP 24 fp je vo forme nedelenej - celej mikrotitračnej doštičky. Rekonštitúcia substrátov prebieha inokuláciou bakteriálnou suspenziou. V priebehu inkubácie dochádza v dôsledku metabolickej aktivity mikroorganizmov k farebným zmenám v jednotlivých jamkách. Odpočet výsledkov testov prebieha vizuálne na základe farebnej stupnice alebo farebného vyjadrenia popísaného v pracovnom návode. Výsledky identifikácie sa odčítajú z vyhodnocovacej tabuľky, alebo pomocou vyhodnocovacieho softwaru, ktorý nájdete na [www.diagnostics.sk/idmicro](http://www.diagnostics.sk/idmicro).

**OBSAH SÚPRAVY - 40 testov (sp) / 100 testov (fp)**

- 10 / 25 mikrotitračných doštičiek GP 24
- 40 / 100 výsledkových formulárov
- 10 / 25 inkubačných sáčkov
- 1 príbalový leták

**POTREBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ ČINIDLÁ A MATERIÁL****Činidlá:**

- Suspenzné médium SM (Ref. 4001)
- DMACA reagent (Ref. 3009)
- Parafínový olej (Ref. 3001)
- PHS reagent (Ref. 3008)
- NIT reagent (Ref. 3005)
- Zn (Ref. 5001)
- OXI (Ref. 2001)
- Identifikačný software (na stránkach spoločnosti)

**Materiál:**

- Pipety
- Tampóny, kľučky, kahan, skúmavky a ďalšie základné vybavenie mikrobiologického laboratória

**VAROVANIA A OPATRENIA**

- **Len pre diagnostické použitie *in vitro* a na mikrobiologickú kontrolu**
- **Len pre profesionálne použitie**
- Dodržujte presne pracovný návod!
- Akékoľvek vzorky a inokulované produkty sa musia považovať za potenciálne infekčné a je treba rešpektovať pri manipulácii s nimi obvyklé bezpečnostné opatrenia podľa predpisov platných v každej krajine.
- Nepoužívajte produkt po dátume expirácie.
- Pred použitím skontrolujte, či je obal nepoškodený. Poškodené súpravy nepoužívajte.

Pri interpretácii výsledkov je nutné vziať do úvahy anamnézu pacienta, zdroj vzorky, morfológiu kolónie, mikroskopickú morfológiu kmeňa a pokiaľ je to nevyhnutné, výsledky všetkých ďalších vykonaných testov, hlavne výsledky antibiogramu.

**PODMIENKY SKLADOVANIA**

Diagnostické súpravy sa dodávajú vo viacvrstvových sáčkoch na báze hliníka a organických polymérov. Súčasťou každého sáčku je dodatočné silikagélové sušidlo. Uchovávajúte súpravy pri teplote +2 až +25°C. Exspirácia je uvedená na každom balení.

Po otvorení uložte nepoužitý zostatok mikrotitračnej doštičky do priloženého hliníkového sáčku vr. originálneho silikagélového sušidla, sáčok starostlivo uzavrite a uložte pri laboratórnej teplote. Takto možno skladovať produkt po dobu dvoch týždňov (alebo do dátumu expirácie v prípade, že nastane skôr).

**VZORKY**

Mikroorganizmy, ktoré majú byť identifikované, izolujte z vhodného neselektívneho kultivačného média (napr. Wilkins - Chalgren a pod.) podľa štandardných mikrobiologických techník. Z čistej kultúry urobte Gramovo farbenie a mikroskopiu. Vykonajte test dôkazu katalázy. Konfirmované izoláty identifikujte na GP 24.

**PRACOVNÝ POSTUP****Príprava inokula**

- Použite skúmavku suspenzného média SM pre anaeróby (Ref. 4001)
- Bakteriologickou kľučkou alebo tampónom naberte z čistej a dobre narastenej 24-48 hod. kultúry niekoľko dobre izolovaných kolónií.
- Zákal riadne homogenizovanej suspenzie musí zodpovedať 3-4 McE. Suspenzia musí byť použitá ihneď po príprave.

**Príprava mikrotitračnej doštičky**

- Pripravte mikrotitračnej doštičky
- Zaznamenajte na stripy čísla vyšetrovaných kultúr.

*TIP: V prípade prvého použitia súpravy GP 24 sp vyberte nepotrebné stripy a vložte do hliníkového sáčku so sušidlom a starostlivo uzavrite. Pre ďalšie použitie si ponechajte rámček mikrotitračnej doštičky.*

**Inokulácia**

- Inokulujte 0,1 ml riadne homogenizovanej suspenzie do každej jamky stripu.
- Jamku H1 s URE prekryte 3 kvapkami parafínového oleja.
- Odporúčame stanovenie testu IND pomocou DMACA reagentu, ktorý je pre svoju veľkú citlivosť vhodný pre anaeróbne mikroorganizmy. Stanovenie urobte na filtračnom papieri podľa návodu DMACA reagent.

**Inkubácia**

- Vložte mikrotitračnú doštičku do priloženého PE sáčku ktorého koniec zahrňte pod doštičku – zabránite tým vysychaniu bakteriálnej suspenzie.
- Inkubujte v anaeróbnej atmosfére (80% N<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>) a pri teplote 35 ± 2 °C po dobu 18 - 24 hodín.

**HODNOTENIE A INTERPRETÁCIA**

Zadajte výsledky testov kataláza - CAT, Gramovo farbenie - GRAM, morfológia koku - COCC a sporulácia - SPOR. Bez zadania vyššie uvedených parametrov nebude identifikácia vzorku prevedená.

Po dobe inkubácie testy odčítajte pomocou odčítacej tabuľky, farebnej stupnice, alebo výsledkov kontrolných kmeňov.

V prípade odfarbenia niektorého testu s obsahom cukru, prikvapnite do jamky kvapku 0,02% nepufrovaného roztoku brómkrezolovej červene.

**Jamka G3:** Test ESL - pozitívne sfarbenie testu je najintenzívnejšie po 5 minútach expozície na vzduchu.

**Jamka H3:** V prípade negatívnej reakcie testu NIT po prikvapnutí 1-2 kvapiek NIT reagentu, pridajte do jamky Zinkový prach (na špičku 1µl kľučky). Ak do 10 minút vykazuje červené sfarbenie, považujte test NIT za negatívny.

**Jamka A2:** Test GLR/PHS je bifunkčný a po odčítaní primárnej reakcie je možné získať zakvapkaním príslušným činidlom druhý výsledok z už odčítanej jamky mikrotitračnej doštičky.

#### V prípade potreby vykonajte nasledujúci bifunkčný test:

GLR / PHS

**jamka A2** - po odčítaní primárnej reakcie prikvapnite 1 - 2 kvapky PHS reagentu a vyhodnoťte test PHS

- Zapište výsledky bifunkčného testu do formulára pre odpočet výsledkov alebo do vyhodnocovacieho softwaru.

#### IDENTIFIKÁCIA

Výsledok identifikácie sa získa pomocou:

- identifikačnej tabuľky
- identifikačného softwaru

#### Identifikácia pomocou identifikačnej tabuľky:

Porovnajte výsledky testov a urobte vyhodnotenie podľa výsledkov testov uvedených v tomto návode na strane 4.

#### Identifikácia pomocou identifikačného softwaru:

Zadajte výsledky jednotlivých testov. V prípade, že nemožno niektorý z testov hodnotiť je možné ho v programe vynechať.

Software umožňuje vkladanie dodatkových testov a tým i zvýšenie identifikačnej účinnosti. Software je pre zákazníkov voľne k dispozícii na stránkach spoločnosti.

#### KONTROLA KVALITY

Kvalita vyrábaných diagnostických súprav sa systematicky kontroluje. Chemikálie sú nakupované len od certifikovaných firiem a kvalita týchto chemikálií je overená doloženým analytickým certifikátom. Funkčnosť súprav je okrem iného testovaná na kontrolných zbierkových kmeňoch, kontrolovaná a testovaná je tiež prítomnosť bakteriálnej kontaminácie. Súpravy sú podrobované záťažovým testom pri zvýšenej teplote a z každej šarže sú ukladané referenčné vzorky pre správne posúdenie prípadných neskorších reklamácií.

#### PRE POTREBU VLASTNÉHO OVERENIA FUNKČNOSTI SÚPRAVY ODPORÚČAME POUŽÍŤ NASLEDUJÚCE KONTROLNÉ KMENE:

Kontrolný kmeň Bacteroides fragilis	ATCC 25285	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	bGA	IND
		-	+	-	+	+	-	+	+	-
		ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GLR	PHS
		-	-	-	(-)	+	v	-	-	v
		NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	bGL	

Kontrolný kmeň Bacteroides ovatus	ATCC 1296	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	bGA	IND
		-	+	-	+	+	+	+	+	+
		ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GLR	PHS
		-	(-)	+	+	+	v	v	-	+
		NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	bGL	

Kontrolný kmeň Clostridium difficile	ATCC 9689	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	bGA	IND
		-	-	-	-	+	-	-	-	-
		ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GLR	PHS
		-	+	-	-	(+)	v	(+)	-	(-)
		NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	bGL	

Kontrolný kmeň Clostridium perfringens	ATCC 12124	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	bGA	IND
		-	+	(-)	(+)	+	-	(-)	+	-
		ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GLR	PHS
		v	-	v	-	+	v	-	v	+
		NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	bGL	

Kontrolný kmeň Clostridium sporogenes	ATCC 3584	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	MLT	SOR	LAC	FRU	ARA	RAF	bGA	IND
		-	v	-	-	(-)	-	-	-	-
		ARG	MAN	TRE	CEL	MNS	RIB	MLZ	GLR	PHS
		+	-	(-)	-	-	v	-	-	-
		NIT	ESL	MLB	SUC	GAL	XYL	NAG	bGL	

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

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

Profilý získané po 24 hodinách kultivácie. Kontrolné kmene slúžia iba k overeniu funkčnosti jednotlivých testov, nie na kontrolu správnosti identifikácie.

### OBMEDZENIE METÓDY A NEJČASTEJŠIE PRÍČINY NEÚSPECHU IDENTIFIKÁCIE

- Diagnostická súprava GP 24 je určená len na identifikáciu baktérií uvedených v tomto návode.
- Možno použiť len čistú kultúru vyšetřovaného mikroorganizmu.
- Testy neboli prevrstvené parafínovým olejom.
- Kontaminácia jamiek inokulom z iného stripu.
- Jedná sa o atypický kmeň.
- Nedodržanie niektorého bodu pracovného návodu.

### CHARAKTERISTIKA STANOVENÍ

Bolo testovaných 150 zbierkových kmeňov a kmeňov klinického pôvodu, ale i veterinárnych kmeňov patriacich k druhom zahrnutým v databáze:

- 97 % kmeňov bolo správne identifikovaných (s doplnkovými testami alebo bez nich).
- 3 % kmeňov nebolo identifikovaných, alebo bolo identifikovaných nesprávne.

### LIKVIDÁCIA ODPADU

S materiálom zaobchádzajte ako s potenciálne infekčným agens. Odpad likvidujte podľa interných operačných postupov a smerníc v súlade s legislatívou svojej krajiny.

### ODČÍTACIA TABUĽKA

JAMKA – 1. riadok	SKRATKA TESTU	NÁZOV TESTU	VÝSLEDKY	
			POZITÍVNY	NEGATÍVNY
H	URE	Urea	ružová	žltá
G	MLT	Maltóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
F	SOR	Sorbitol	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
E	LAC	Laktóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
D	FRU	Fruktóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
C	ARA	Arabinóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
B	RAF	Rafinóza	žltá / sivofialová	fialová
A	bGA	b-galaktózidáza	žltá	bezfarebná
JAMKA – 2. riadok	SKRATKA TESTU	NÁZOV TESTU	POZITÍVNY	NEGATÍVNY
H	ARG	Arginín	červenofialová / červená	žltá , žltlooranžová
G	MAN	Manitol	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
F	TRE	Trehalóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
E	CEL	Celobióza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
D	MNS	Manóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
C	RIB	Ribóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
B	MLZ	Melezitóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
A	GLR	b-glukuronidáza	žltá	zákal suspenzie
A´	PHS	Alkalická fosfatáza	červená / ružová	zákal suspenzie
JAMKA – 3. riadok	SKRATKA TESTU	NÁZOV TESTU	POZITÍVNY	NEGATÍVNY
H	NIT	Nitráty	tmavoružová	zákal suspenzie
G	ESL	Eskulín	hnedá	běžová, svetlo hnedá
F	MLB	Melibióza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
E	SUC	Sacharóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
D	GAL	Galaktóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
C	XYL	Xylóza	žltá / sivožltá	fialová / sivofialová
B	NAG	N – acetyl-glukózaminid	žltá	zákal suspenzie
A	bGL	b-glukozidáza	žltá	zákal suspenzie

