

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Diagnostická souprava GP 24 představuje standardizovaný identifikační systém pro běžnou druhovou identifikaci Gram pozitivních koků - zejména stafylokoků, streptokoků a enterokoků, 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 trojstripu 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 popsáno 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)
- OXI (Ref. 2001)
- PYR (Ref. 2003) a PYR reagent (Ref. 3003)
- Identifikační software (na stránkách společnosti)

Materiál:

- Pipety
- Tampony, klíčky, 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 potencionálně 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 antigrogramu.

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 klíčkou 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 klíčkou 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 monstripu.
- 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

Pro CAT pozitivní druhy zapište povinně výsledek testu NOV a COA!

Pro CAT negativní druhy zapište povinně výsledek bHEM, PYR a HIP!

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.

Pro G+ kataláza negativní koky proveďte v případě potřeby následující bifunkční testy:

GLR/PHS, NIT a zejména bGL/HIP.
Zaznamenejte výsledek β -hemolýzy.

Pro G+ kataláza pozitivní koky proveďte v případě potřeby následující bifunkční testy:

GLR / PHS, NIT

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.

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 testovány 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 POUŽIT 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> ssp. <i>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 13682	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 150 sbírkových kmenů a kmenů klinického původu, ale i veterinárních kmenů patřících k druhům zahrnutým v databázi:

- 97 % kmenů bylo správně identifikováno (s doplňkovými testy nebo bez nich).
- 3 % 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 / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
F	SOR	Sorbitol	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
E	LAC	Laktóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
D	FRU	Fruktóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
C	ARA	Arabinóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
B	RAF	Rafinóza	žlutá / šedo fialová	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 / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
F	TRE	Trehalóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
E	CEL	Celobióza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
D	MNS	Manóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
C	RIB	Ribóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
B	MLZ	Melezitóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
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 / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
E	SUC	Sacharóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
D	GAL	Galaktóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
C	XYL	Xylóza	žlutá / šedo žlutá	fialová / šedo fialová
B	NAG	N – acetyl-glukosaminid	Žlutá	Zákal suspenze
A	bGL	b-glukosidáza	Žlutá	Zákal suspenze
A´	HIP	Hipurát	modrá	Zákal suspenze

