

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Diagnostická souprava YST 8 je standardizovaný identifikační systém pro běžnou druhovou identifikaci klinicky významných kvasinek který využívá 8 miniaturizovaných biochemických testů. Na konci návodu je uveden kompletní seznam všech mikroorganismů, pro které je souprava určena.

PRINCIP

Souprava YST 8 sestává z 8 jamek mono stripu mikrotitrační destičky v klasickém 96 jamkovém formátu obsahujících dehydratované substráty. Rekonstituce substrátů probíhá inokulací bakteriální suspenzí. V průběhu inkubace dochází v důsledku metabolické aktivity mikroorganismů k barevným změnám v jednotlivých jamkách. Odečet výsledků testů probíhá vizuálně na základě barevné stupnice. Výsledky identifikace se odečtou z vyhodnocovací tabulky s přehledem profilů.

OBSAH SOUPRAVY

- 5 mikrotitračních destiček YST 8
- 60 výsledkových formulářů
- 5 inkubačních sáčků
- 1 příbalový leták

POTŘEBNÁ, ALE NEDODÁVANÁ ČINIDLA A MATERIÁL

Činidla:

- Parafinový olej (Ref. 3001)
- PHE reagent (Ref. 3007)

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 potenciaálně 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, morfolonii kolonie a mikroskopickou morfolonii kmene a, pokud je to nezbytné, výsledky všech dalších provedených testů, obzvláště výsledky antibiogramu.

PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ

Diagnostické soupravy se dodávají ve vícevrstvých sáčcích na bázi hliníku, polyamidu a PE. Součástí každého sáčku je silikagelové sušidlo. Uchovávejte soupravy při teplotě $+2$ až $+25^{\circ}\text{C}$.

Expirace je uvedena na každém balení.

Po otevření uložte nepoužitý zbytek mikrotitrační destičky do hliníkového sáčku vč. originálního silikagelového sušidla, sáček pečlivě uzavřete a uložte při laboratorní teplotě. 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 (Sabouraudův agar) podle standardních mikrobiologických technik. Posuďte čistotu a morfolonii mikrobiální kultury.

PRACOVNÍ POSTUP

Příprava inokula

- Použijte jakýkoliv sterilní nepufrovaný vytemperovaný fyzilogický roztok.
- Bakteriologickou kličkou nebo tamponem naberte z čisté 18 – 48 hod. kultury několik dobře izolovaných kolonií.
- Zálal řádně homogenizované suspenze musí odpovídat 3-5 McF. Tato suspenze se musí použít ihned po přípravě.

Inokulace

- Zaznamenejte na stripu čísla vyšetřovaných kultur
- Inokulujte 0,1 ml řádně homogenizované suspenze do každé jamky monstripu.
- Testy URE až RAF (jamka H až E) překryjte 3 kapkami parafinového oleje.

Inkubace

- Vložte rámeček s inokulovanými stripy do přiloženého PE sáčku jehož konec zahrňte pod destičku – zabráníte tím vysychání bakteriální suspenze.
- Inkubujte aerobně při teplotě $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodin.

HODNOCENÍ A INTERPRETACE

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

Test bGL / PHE - je bifunkční, po odečítání bGL, můžeme získat další výsledek z tytéž jamky.

Jamka A: bGL / PHE - přidejte jednu kapku PHE reagentu a vyhodnoťte Do výsledkového formuláře zaznamenejte výsledky testů.

IDENTIFIKACE

Výsledek identifikace se získá pomocí:

- identifikační tabulky
- vyhodnocovacího softwaru ID micro

Identifikace pomocí identifikační tabulky:

Srovnejte výsledky testů a proveďte vyhodnocení dle výsledků testů uvedených v tomto návodu na straně 2.

Identifikace pomocí vyhodnocovacího softwaru:

Vložte výsledky stanovení do identifikačního softwaru ID micro a vyhodnoťte.

KONTROLA KVALITY

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

OMEZENÍ METODY A PŘÍČINY NEÚSPĚCHU IDENTIFIKACE

- Nedodržení některého bodu pracovního návodu
- Kontaminace jamek inokulem z dalšího stripu
- Jedná se o atypický kmen

CHARAKTERISTIKY STANOVENÍ

Bylo testováno celkem 150 kmenů kvasinek sbírkových nebo klinického původu patřících k druhům zahrnutým v databázi:

Interní testování:

- 90 % kmenů bylo správně identifikováno
- 10 % kmenů nebylo identifikováno.
- 0 % bylo identifikováno špatně.

Nezávislé testování:

- 94 % kmenů bylo správně identifikováno
- 6 % kmenů nebylo identifikováno.
- 0 % bylo identifikováno špatně.

LIKVIDACE ODPADU

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

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

Kontrolný kmeň	CCM	ATCC	URE	SUC	TRE	RAF	bGA	NAG	PRO	bGL	PHE
<i>Candida albicans</i>	8226	2091	-	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	8312	90112	+	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8191	9763	-	+	+	+	-	-	-	-	-

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 18 až 24 hodinách inkubace po kultivaci na Sabouraudově agaru.

Kontrolní kmeny slouží jen k ověření funkčnosti jednotlivých testů, ne pro kontrolu správnosti identifikace.

ODEČÍTACÍ TABULKA

JAMKA	ZKRATKA TESTU	NÁZEV TESTU	VÝSLEDKY	
			POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ
H	URE	Urea	červená/červenooranžová	žlutá/žlutooranžová
G	SUC	Sacharóza	žlutá/žlutozelená	zelená
F	TRE	Trehalóza	žlutá/žlutozelená	zelená
E	RAF	Rafinóza	žlutá/žlutozelená	zelená
D	bGA	β-galaktosidáza	žlutá/nažloutlá	zákal suspenze
C	NAG	N-acetylglukosamín	žlutá/nažloutlá	zákal suspenze
B	PRO	Prolin	žlutá/nažloutlá	zákal suspenze
A	bGL	β-glukosidáza	žlutá/nažloutlá	zákal suspenze
A'	PHE	Fenylalanin deamináza	tmavě zelená	žlutá

Identifikační tabulka a seznam profilů:

Název kmene	URE	SUC	TRE	RAF	bGA	NAG	PRO	bGL	PHE	mikroskopické znaky		
										HYP	PSH	GET
<i>Candida albicans</i>	-	+	v	-	-	+	+	(-)	-	-	+	+
<i>Candida dubliniensis</i>	-	+	+	-	-	+	+	-	(+)	-	+	+
<i>Candida glabrata</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	-	+	(-)	+	-	-	+	+	-	-	+	-
<i>Candida kefyr</i>	-	+	-	+	+	-	-	(+)	-	-	+	-
<i>Candida krusei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Candida lipolytica</i>	+	-	-	-	-	-	+	v	+	-	+	-
<i>Candida lusitanae</i>	-	+	v	-	-	-	+	+	-	-	+	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	v	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	+	-	-	-	-	v	-	+	-	-	-	-
<i>Geotrichum sp.</i>	-	-	-	v	-	v	(-)	-	v	+	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	+	v	+	-	-	-	-	-	-	(-)	-
<i>Trichosporon asahii</i>	+	-	-	-	-	+	-	+	(+)	+	-	-
<i>Trichosporon mucoides</i>	+	+	-	v	+	+	+	+	-	+	-	-

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

GET – Germ tubes test, PSH – pseudomycélium, HYP – tvorba hyf