



MicroScan

HNID Procedural Manual

REF B1012-10B

TABLE OF CONTENTS

English	2
Français (FR)	9
Deutsch (DE)	16
Italiano (IT)	23
Español (ES)	31
Português Portugal (PT-PT)	38
Norsk (NO)	45
Ελληνικά (EL)	52
中文 (ZH-CN)	60
Lietuviškai (LT)	66
Magyar (HU)	73
Polski (PL)	80
Čeština (CZ)	88
한국어 (KO)	95
Türkçe (TR)	102
Русский (RU)	109
Română (RO)	117
Србија (SR)	124
Português Brasil (PT-BR)	131
Nederlands (NL)	138
Tiếng Việt (VI)	145
Македонски (MK)	152
REFERENCES	160

MicroScan

HNID Procedural Manual

REF B1012-10B

INTENDED USE

The HNID system is designed for rapid identification of and detection of β -lactamase production in *Neisseria* species, *Haemophilus* species, *Branhamella catarrhalis* and *Gardnerella vaginalis*. Biotyping of *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae* may also be performed.

SUMMARY AND PRINCIPLE

Modified conventional and chromogenic tests are used for identification of fastidious Gram negative cocci and bacilli.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} A 3 McFarland suspension of the organism to be tested is made in a special inoculum broth. The HNID panel is rehydrated and inoculated from the broth and incubated for 4 hours. After incubation, changes in pH and utilization of certain substrates or other biochemical reactions are interpreted for identification. A rapid acidometric method is used for the detection of the enzyme β -lactamase.^{13,14,15}

WARNING AND PRECAUTIONS

HNID panels and reagents are for *in vitro* diagnostic use only. Do not allow Peptidase Reagent or HNID Indole Reagent to come in contact with eyes, skin or clothing. Observe aseptic techniques and established precautions against microbiological hazards throughout the procedure, with special awareness that the inoculated panels contain potentially pathogenic organisms.

STORAGE

Store between 2-8°C. After rehydration with HNID Inoculum Broth, discard the panel if any substrate appears to have a positive reaction. Refer to the Biochemical Interpretation Chart for positive color reactions.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at techdocs.beckmancoulter.com

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Specimens are collected and placed on primary isolation media according to laboratory procedures as described in the *Manual of Clinical Microbiology*.¹⁶

MATERIALS PROVIDED

HNID Panel (B1012-10B)

Procedural Manual

HNID Biotype Codebook

Worksheet

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

HNID Inoculum Broth (B1015-16)

Peptidase Reagent (B1012-30B)

Cover Tray (B1010-56B)

Mineral Oil, 60 mL (B1010-40)

Mineral Oil, 250 mL (B1010-40A) - ONLY for use with WalkAway *SI* instruments (and WalkAway instruments upgraded with the automated oil overlay feature)

0.5% N, N-Dimethyl- α -Naphthylamine (B1010-45A)

HNID Indole Reagent (B1015-15)

0.8% Sulfanilic Acid (B1010-44A)

50 μ L Pipettor with Sterile Tips

Sterile Wooden Applicator Sticks or Sterile Inoculating Loop

3 McFarland Barium Sulfate Turbidity Standard

4 McFarland Barium Sulfate Turbidity Standard

Vortex mixer

35-37°C non-CO₂ Incubator

Quality Control Organisms:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCEDURE

1. Panel Preparation

Remove the panel from refrigeration and *immediately* remove from foil pouch. **Panels should not be used if the dessicant is not present or is broken or if the integrity of the packaging is compromised (unsealed, punctured or torn).** Allow the panel and the HNID Inoculum Broth to come to room temperature before use. Panels may be stacked with a clean cover tray on top.

2. Organism Preparation

Using a sterile applicator stick or a sterile inoculating loop, transfer sufficient morphologically similar colonies from an 18-24 hour primary isolation plate (Blood, Chocolate, GV or Thayer Martin Agar) to the HNID Inoculum Broth comparable to a 3 McFarland Barium Sulfate Turbidity Standard. For *Neisseria* species, a 4 McFarland Barium Sulfate Turbidity Standard is desirable. Vortex the Inoculum Broth before inoculating the panel. Do not use less than a 3 McFarland Barium Sulfate Turbidity Standard to inoculate any HNID panels.

3. Inoculation

Transfer 50 µL (0.05 mL) of Inoculum Broth to each labeled well of the HNID panel. A 50 µL pipettor with sterile tip should be used. After each panel inoculation, MicroScan recommends subculturing 1 drop of the excess Inoculum Broth onto a suitable medium as a purity check.

NOTE: For use with autoSCAN-4 and WalkAway Systems the LOC well must also be rehydrated.

4. Biochemical Oil Overlays

Using a dropper bottle, overlay the URE well with 2-3 drops of Mineral Oil. The media in the well should be completely covered, but the well should not be overfilled.

NOTE: WalkAway *SI* instruments (and WalkAway instruments upgraded with the automated oil overlay feature) automatically add oil to the URE well.

5. Incubation

Incubate the inoculated panel for 4 hours at 35-37°C in a non-CO₂ incubator. Stack panels in groups of 4 to 5 with a Cover Tray over the top panel to prevent evaporation.

6. Visual or touchSCAN Panel Reading

A. After 4 hours incubation at 35-37°C, those tests which do not require the addition of reagents (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA and BL) should be read first.

B. Add reagents as follows:

a. PRO, NGL, ZAR

Add 1 drop of Peptidase Reagent to the PRO, NGL, and ZAR wells. Allow 3-5 minutes for the color reaction to develop.

b. NO₃, NO₂

Add 1 drop of 0.8% Sulfanilic Acid and 1 drop of 0.5% N, N-Dimethyl-α-Naphthylamine to the NO₃ and NO₂ wells. Allow 3-5 minutes for the color reaction to develop.

c. IND

Add 1-2 drops of HNID Indole Reagent to the IND well. Color will develop immediately.

C. Interpret the reactions according to the Biochemical Interpretation Chart and record results on the worksheet provided, or input the positive reactions via the touchSCAN reader.

Table 1, Substrates

Substrates	Abbr.	Substrates	Abbr.
Indoxyl Phosphate	IDX	Urea	URE
Nitrate	NO ₃	Ornithine	ORN

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Substrates	Abbr.	Substrates	Abbr.
Nitrite	NO ₂	Indole	IND
Glucose	GLU	L-Prolyl-β-Naphthylamide	PRO
Sucrose	SUC	N-γ-L-Glutamyl-β-Naphthylamide	NGL
Maltose	MAL	N-α-Benzoyl-DL-Arginine-β-Naphthylamide	ZAR
Fructose	FRU	p-Nitrophenyl-α-D-glucoside	AGL
Lactose	LAC	Starch	STA
o-Nitrophenyl-β-D-Galactoside	GAL	β-Lactamase (Penicillin)	BL

7. autoSCAN-4 Panel Reading

- After 4 hours incubation at 35-37°C, overlay the GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA and BL with mineral oil before adding reagents.
- Add reagents as follows:
 - PRO, NGL, ZAR
Add 1 drop of Peptidase Reagent to the PRO, NGL, and ZAR wells. Allow 3-5 minutes for the color reaction to develop.
 - NO₃, NO₂
Add 1 drop of 0.8% Sulfanilic Acid and 1 drop of 0.5% N, N-Dimethyl-α-Naphthylamine to the NO₃ and NO₂ wells. Allow 3-5 minutes for the color reaction to develop.
 - IND
Add 1-2 drops of HNID Indole Reagent to the IND well. Color will develop immediately.
- After each reaction has developed for the appropriate amount of time, insert the panel into the autoSCAN-4 for reading.

8. WalkAway Systems Panel Reading

- After 4 hours incubation, those tests which do not require the addition of reagents (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA, and BL) are read first.
- The WalkAway then adds the appropriate reagents to the following: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂, and IND. These reactions are then interpreted.

NOTE: The WalkAway reads wells that do not require reagents first to prevent altered results due to reagent fumes that may be trapped under the tray lid. Therefore, biochemicals cannot be verified manually.

RESULTS

Table 2

Biochemical Interpretation Chart			
Well	Positive	Negative	Notes
IDX	Blue to Gray Precipitate	Clear	
NO ₃	Pink, Red to Magenta	Clear to Yellow	Results recorded after 3-5 minutes.
NO ₂	Clear to Yellow	Pink, Red to Magenta	Results recorded after 3-5 minutes.
GLU SUC LAC	Orange to Yellow	Red to Red/Orange	Any red color should be recorded as negative.
FRU	Yellow to Yellow/Orange	Red to Orange	Any yellow color should be recorded as positive.
MAL	Yellow	Red to Yellow/Orange	
GAL	Yellow	Clear	A pale yellow is positive. Use IND well before addition of reagent as a negative control.
URE	Red to Magenta	Yellow to Light Pink	
ORN	Green to Blue	Yellow to Yellow/Green	Any yellow color should be recorded as negative.
IND	Red Ring	Yellow	Any red color should be recorded as positive.
PRO NGL ZAR	Red to Magenta	Yellow to Orange	Results should be recorded within 3-5 minutes. A weak ZAR reaction is indicated by a cloudy appearance.
AGL	Yellow	Clear	Any yellow color should be recorded as positive. Use the IND well before the addition of reagent as a negative control.
STA BL	Yellow to Yellow/Orange	Red to Orange	Any yellow color should be considered as positive.
LOC	For autoSCAN-4 and WalkAway System Panel Alignment		

Reactions

Indoxyl Phosphatase (IDX) - Alkaline phosphatase splits indoxyl phosphate to free indoxyl which combines with molecular oxygen to form an insoluble blue compound.

Nitrate (NO₃) - The ability of an organism to reduce nitrate to nitrite is detected by the addition of Sulfanilic Acid and N, N-Dimethyl- α -Naphthylamine which produce a red color in the presence of nitrite.

Nitrite (NO₂) - The ability of an organism to reduce nitrite to free nitrogen gas is detected by the addition of Sulfanilic Acid and N, N-Dimethyl- α -Naphthylamine. In the presence of nitrite, a red color develops which is a negative test. If no color develops, the nitrite has been reduced and the test is a positive test.

Carbohydrate Utilization (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) - The utilization of a specific carbohydrate results in acid formation with the consequent pH drop indicated by a phenol red indicator.

β -Galactosidase (GAL) - β -galactosidase hydrolyzes o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside which liberates the yellow-colored o-nitrophenol.

α -Glucosidase (AGL) - α -glucosidase hydrolyzes p-nitrophenyl- α -D-glucoside which liberates the yellow-colored p-nitrophenol.

Urea (URE) - The enzyme urease splits urea forming ammonia with the resulting pH increase detected by a phenol red indicator.

Ornithine (ORN) - Decarboxylation of ornithine results in an alkalinization of the media which is detected by the pH indicator bromthymol blue.

Indole (IND) - The metabolism of tryptophan results in the formation of indole which is detected by the addition of HNID Indole Reagent. If indole is present, a red ring forms.

Peptidases (PRO, NGL, ZAR) - The ability of an organism to produce a specific peptidase enzyme is determined by splitting the appropriate amino acid from its linkage to β -naphthylamide. The free β -naphthylamide is then detected by complexing with p-dimethylaminocinnamaldehyde producing a red to magenta color.

β -Lactamase (BL) - Penicillin G is degraded by β -lactamase to Penicilloic Acid. The pH shift is detected by a phenol red indicator.

Organism Identification

The MicroScan HNID Biotype Codebook is used for the identification of unknown test organisms. This Codebook has been generated from MicroScan's data base of information compiled from tests on the HNID panel.

The Biotype Codebook provides for computer analysis of 17 tests to identify unknown organisms. These tests are translated into a 6-digit "biotype number," for which the Codebook lists the organism identification and its relative probability. Refer to the HNID Biotype Codebook for the procedure for generating a biotype number. When only one organism is listed for a biotype number, the relative probability is 99.9%. If more than one species identification is possible for a particular biotype number, all possibilities are printed in the order of the highest probability up to a cumulative total probability of 99.9%.

Should a biotype number occur that is not in the Codebook, we suggest repeating the test from a fresh culture. If retesting yields the same results, consult the Biotype Lookup Service on the Beckman Coulter website or consult your local distributor.

LIMITATION OF THE PROCEDURE

1. Should more than one species identification be listed for a particular biotype number, supplemental tests may be necessary for a correct identification. Testing for other criteria, such as X and V factors and aerotolerance should also be performed.
2. Only *Haemophilus* species, *Neisseria* species, *Branhamella catarrhalis* and *Gardnerella vaginalis* can be tested - do not use this product for other coccobacillary organisms.
3. The interpretation of test results requires trained clinical personnel who should use judgement, knowledge and additional confirmatory testing where required prior to accepting the identification of an organism. Please refer to the footnotes listed in the HNID Biotype Codebook or the Microbiology Information Manual.
4. Biotype numbers should not be used for phenotypic identification of strains isolated from various specimens from the same patient.
5. CLSI guidelines M7-A7, Vol. 26, No. 2, recommends nitrocefin-based β -Lactamase test for testing *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
6. Biotype groups for *Haemophilus* sp. do not correlate with serotypes, i.e., *Haemophilus influenzae* II is not definitively group B. Serotyping is necessary.
7. Occasionally, some strains of *N. meningitidis* do not produce acid from maltose. These strains may give an incorrect identification of *N. gonorrhoeae* if NGL is also negative. Please refer to the footnotes listed in the HNID Biotype Codebook or the Microbiology Information Manual.
8. *H. haemolyticus* isolates grown on chocolate agar may be incorrectly identified as *H. influenzae*. Hemolysis on horse blood agar may be used to distinguish *H. haemolyticus* from *H. influenzae*.

EXPECTED VALUES

Refer to the HNID Percent Positive Reaction chart for the expected results for each test and each species. (See Table 3.)

	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae I</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae II</i>	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae III</i>	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae IV</i>	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae V</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-1²</i>	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-2²</i>	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae I</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae II</i>	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae III</i>	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae IV</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa (NIT +)</i>	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Neisseria species</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Positive Reactions Interpretations Values shown in this table are not actual percentages but representation based on published data and MicroScan results.
2. *Haemophilus influenzae VI-1* is the Biotype of Oberhofer biotype classification. *Haemophilus influenzae VI-2* is the Biotype VI of the Kilian biotype classification.¹⁸

Expected reactions have been expressed by nine values:					
Value	Meaning	Value	Meaning	Value	Meaning
1	Pos. Reaction Very Rare	25	Majority Reaction Negative	90	Neg. Reaction Uncommon
5	Pos. Reaction Rare	50	Pos. or Neg. Reaction	95	Neg. Reaction Rare
10	Pos. Reaction Uncommon	75	Majority Reaction Positive	99	Neg. Reaction Very Rare

QUALITY CONTROL

Culture purity should be checked by subculturing from the inoculum suspension onto suitable agar media. Test results are invalid if a mixed culture is detected. The acceptability of the identification media may be checked by testing with the following strains: (Table 4.)

Table 4

Quality Control Chart

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. A positive result may be obtained with *Neisseria mucosa* ATCC 49233.
2. A positive result may be obtained with *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.
3. A positive result may be obtained with *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

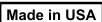
WARRANTY STATEMENT

The system is covered by and subject to the provisions of the warranty included in your contractual agreement for the system or its reagents. The customer is responsible for routine preventive maintenance procedures. Repairs arising from the failure to perform these maintenance procedures at the indicated time intervals are made at the discretion of Beckman Coulter, and at the customer's expense.

Symbols Key

Symbols Key			
Symbol	Symbol Title	Description of Standard	Standard
	Do not re-use	Indicates a medical device that is intended for one use, or for use on a single patient during a single procedure.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Use-by-date	Indicates the date after which the medical device is not to be used.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Batch Code	Indicates the manufacturer's batch code so that the batch or lot can be identified.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Catalogue Number	Indicates the manufacturer's catalogue number so that the medical device can be identified.	ISO 15223-1, clause 5.1.6
	Manufacturer	Indicates the medical device manufacturer, as defined in EU Directives 90/385/EEC, 93/42/EEC and 98/79/EC.	ISO 15223-1, clause 5.1.1
	Date of Manufacture	Indicates the date when the medical device was manufactured.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Authorized Representative in the European Community	Indicates the authorized representative in the European Community.	ISO 15223-1, clause 5.1.2
	Contains sufficient for <n> tests	Indicates the total number of IVD tests that can be performed with the IVD. (Typically included on reagent kits).	ISO 15223-1; 5.5.5
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device	Indicates a medical device that is intended to be used as an <i>in vitro</i> diagnostic medical device.	ISO 15223-1, clause 5.5.1
	Temperature Limitation	Indicates the temperature limits to which the medical device can be safely exposed.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Consult Instructions for Use	Indicates the need for the user to consult the instructions for use.	ISO 15223-1; 5.4.3
	CE Mark	European Conformity Regulatory Mark	n/a
	Contents	n/a	n/a
	Contents (package)	Antimicrobial Agent (abbreviation)	n/a

Symbols Key

Symbol	Symbol Title	Description of Standard	Standard
	Contents (package)	Identification Substrate (abbreviation)	n/a
	Safety Data Sheet	Indicates a safety data sheet.	n/a
	Made in USA	n/a	n/a
	For Export Use Only	n/a	n/a
	Reconstitution Volume	n/a	n/a
	Fragile, handle with care	Indicates a medical device that can be broken or damaged if not handled carefully.	ISO 15223-1; 5.3.1
	This way up	Indicates the correct upright position	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements.			

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

MicroScan

HNID Procedural Manual (Manuel d'utilisation HNID)

REF B1012-10B

UTILISATION

Le système HNID est conçu pour une identification rapide et une détection de la production de β -lactamase dans les espèces *Neisseria*, les espèces *Haemophilus*, les *Branhamella catarrhalis* et les *Gardnerella vaginalis*. Le biotype de *Haemophilus influenzae* et *Haemophilus parainfluenzae* peut également être déterminé.

RÉSUMÉ ET PRINCIPE

Des tests conventionnels modifiés et chromogéniques sont utilisés pour l'identification des cocci et bacilles exigeants à Gram négatifs.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Une suspension de l'organisme à analyser de 3 McFarland est préparée dans un bouillon d'inoculum spécial. La plaque HNID est réhydratée et inoculée à partir du bouillon et incubée pendant 4 heures. Après l'incubation, les altérations du pH et l'utilisation de certains substrats ou d'autres réactions biochimiques sont interprétées pour l'identification. Une méthode d'acidimétrie rapide est utilisée pour la détection de l'enzyme β -lactamase^{13,14,15}.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Les plaques et réactifs HNID sont conçus pour une utilisation en diagnostic *In Vitro* uniquement. Ne pas laisser le réactif peptidase ou le réactif indole HNID entrer en contact avec les yeux, la peau ou les vêtements. Observer les précautions et les techniques habituelles d'asepsie lors de toute manipulation et garder à l'esprit le fait que les plaques inoculées contiennent des organismes potentiellement pathogènes.

CONSERVATION

Conserver entre 2–8 °C. Après réhydratation avec le bouillon pour inoculum HNID, éliminer la plaque si un substrat semble avoir une réaction positive. Consulter le graphique d'interprétation biochimique pour connaître les réactions de couleur positives.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse techdocs.beckmancoulter.com

RECUEIL ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Les échantillons sont prélevés et mis en culture sur un milieu d'isolement primaire, en suivant les procédures du laboratoire décrites dans le document *Manual of Clinical Microbiology (Manuel de microbiologie clinique)*¹⁶.

MATÉRIEL FOURNI

Plaque HNID (B1012-10B)

Manuel d'utilisation

HNID Biotype Codebook (Livre de code des biotypes HNID)

Feuille de travail

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Bouillon d'inoculum HNID (B1015-16)

Réactif Peptidase (B1012-30B)

Couvercle (B1010-56B)

Huile minérale, 60 mL (B1010-40)

Huile minérale, 250 mL (B1010-40A) : UNIQUEMENT pour utilisation avec les instruments WalkAway SI (et les instruments WalkAway mis à jour avec la fonction ajout d'huile automatique)

N,N-Diméthyl- α -Naphthylamine 0,5 % (B1010-45A)

Réactif indole HNID (B1015-15)

Acide sulfanilique 0,8 % (B1010-44A)

Pipette de 50 μ L avec embouts stériles

Applicateurs stériles en bois ou anse d'inoculation stérile

Étalon de turbidité de sulfate de baryum à 3 McFarland

Étalon de turbidité de sulfate de baryum à 4 McFarland

Agitateur de vortex

incubateur sans CO₂ à 35–37 °C

Organismes de contrôle de qualité :

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCÉDURE

1. Préparation des plaques

Sortir la plaque du réfrigérateur et la retirer *immédiatement* de son sachet en aluminium. **Les plaques ne doivent pas être utilisées si l'absorbeur d'humidité est absent ou rompu, ou si l'intégrité de l'emballage est compromise (non scellé, perforé ou déchiré).** Laisser la plaque et le bouillon pour inoculum HNID atteindre la température ambiante avant utilisation. Les plaques peuvent être empilées en plaçant un couvercle propre au-dessus.

2. Préparation de l'organisme

À l'aide d'un applicateur stérile ou d'une anse d'inoculation stérile, transférer suffisamment de colonies de morphologie similaire à partir d'une plaque d'isolement primaire de 18–24 heures (gélose de sang, chocolat, GV ou Thayer Martin) dans le bouillon d'inoculum HNID comparable à un étalon de turbidité de sulfate de baryum à 3 McFarland. Pour les espèces *Neisseria*, un étalon de turbidité de sulfate de baryum à 4 McFarland est souhaitable. Mélanger le bouillon d'inoculum au vortex avant d'inoculer la plaque. Ne pas utiliser un étalon de turbidité de sulfate de baryum inférieur à 3 McFarland pour inoculer les plaques HNID.

3. Inoculation

Transférer 50 µL (0,05 mL) de bouillon d'inoculum dans chaque puits étiqueté de la plaque HNID. Une pipette de 50 µL avec un embout stérile doit être utilisée. Après chaque inoculation de plaque, MicroScan recommande de préparer une sous-culture de 1 goutte de l'excès de bouillon d'inoculum dans un milieu adapté pour vérifier la pureté.

REMARQUE : pour une utilisation avec les systèmes autoSCAN-4 et WalkAway, le puits LOC doit également être réhydraté.

4. Couches d'huile biochimique

À l'aide d'un compte-gouttes, recouvrir le puits URE avec 2–3 gouttes d'huile minérale. Le milieu dans le puits doit être complètement recouvert, mais le puits ne doit pas être trop rempli.

REMARQUE : les instruments WalkAway SI (et les instruments WalkAway mis à niveau avec la fonction ajout d'huile automatique) ajoutent automatiquement l'huile dans le puits URE.

5. Incubation

Incuber la plaque inoculée pendant 4 heures à une température de 35–37 °C dans un incubateur sans CO₂. Empiler les plaques par groupes de 4 à 5 avec un couvercle sur la plaque du dessus, pour éviter l'évaporation.

6. Lecture visuelle ou touchSCAN de la plaque

A. Après 4 heures d'incubation à 35–37 °C, les tests qui ne nécessitent pas l'ajout de réactifs (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA et BL) doivent être lus en premier.

B. Ajouter les réactifs comme expliqué ci-dessous :

a. PRO, NGL, ZAR

Ajouter 1 goutte de réactif peptidase aux puits PRO, NGL et ZAR. Patienter 3–5 minutes pour que la réaction de couleur se développe.

b. NO₃, NO₂

Ajouter 1 goutte d'acide sulfanilique 0,8 %, puis 1 goutte de N,N-Diméthyl-α-Naphthylamine 0,5 % dans les puits NO₃ et NO₂. Patienter 3–5 minutes pour que la réaction de couleur se développe.

c. IND

Ajouter 1–2 gouttes de réactif indole HNID au puits IND. La couleur se développe immédiatement.

C. Interpréter les réactions selon le graphique d'interprétation biochimique et consigner les résultats sur la feuille de travail fournie, ou saisir les réactions positives grâce au lecteur touchSCAN.

Tableau 1, Substrats

Substrats	Abr.	Substrats	Abr.
Indoxyl Phosphate	IDX	Urée	URE
Nitrate	NO ₃	Omithine	ORN
Nitrite	NO ₂	Indole	IND
Glucose	GLU	L-Prolyl-β-Naphthylamide	PRO
Saccharose	SUC	N-γ-L-Glutamyl-β-Naphthylamide	NGL
Maltose	MAL	N-α-Benzoyl-DL-Arginine-β-Naphthylamide	ZAR
Fructose	FRU	p-Nitrophényl-α-D-glucoside	AGL
Lactose	LAC	Amidon	STA
o-Nitrophényl-β-D-Galactoside	GAL	β-Lactamase (Pénicilline)	BL

7. Lecture de plaque autoSCAN-4

- A. Après 4 heures d'incubation à 35–37 °C, recouvrir les puits GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA et BL d'huile minérale avant d'ajouter les réactifs.
- B. Ajouter les réactifs comme expliqué ci-dessous :
 - a. PRO, NGL, ZAR
Ajouter 1 goutte de réactif peptidase aux puits PRO, NGL et ZAR. Patienter 3–5 minutes pour que la réaction de couleur se développe.
 - b. NO₃, NO₂
Ajouter 1 goutte d'acide sulfanilique 0,8 %, puis 1 goutte de N,N-Diméthyl-α-Naphthylamine 0,5 % dans les puits NO₃ et NO₂. Patienter 3–5 minutes pour que la réaction de couleur se développe.
 - c. IND
Ajouter 1–2 gouttes de réactif indole HNID au puits IND. La couleur se développe immédiatement.
- C. Après le développement de chaque réaction pendant la durée appropriée, insérer la plaque dans l'autoSCAN-4 pour la lecture.

8. Lecture de plaque des systèmes WalkAway

- A. Après 4 heures d'incubation, les tests qui ne nécessitent pas l'ajout de réactifs (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA et BL) sont lus en premier.
- B. Le WalkAway ajoute alors les réactifs appropriés aux puits suivants : PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ et IND. Ces réactions sont alors interprétées.

REMARQUE : le WalkAway lit en premier les puits qui ne nécessitent pas de réactif pour éviter l'altération des résultats, puisque des émanations de réactif peuvent être coincées sous le couvercle du plateau. Par conséquent, il est impossible de vérifier manuellement les réactions biochimiques.

RÉSULTATS**Tableau 2**

Graphique d'interprétation biochimique			
Well	Positif	Négatif	Remarques
IDX	Précipité bleu à gris	Clair	
NO ₃	Rose, rouge à magenta	Transparent à jaune	Résultats enregistrés après 3–5 minutes.
NO ₂	Transparent à jaune	Rose, rouge à magenta	Résultats enregistrés après 3–5 minutes.
GLU SUC LAC	Orange à jaune	Rouge à rouge-orangé	Toute couleur rouge doit être enregistrée comme résultat négatif.
FRU	Jaune à jaune-orange	Rouge à orange	Toute couleur jaune doit être enregistrée comme résultat positif.
MAL	Jaune	Rouge à jaune-orangé	
GAL	Jaune	Clair	Un jaune pâle constitue un résultat positif. Utiliser le puits IND avant l'ajout d'un réactif comme contrôle négatif.
URE	Rouge à magenta	Jaune à rose pâle	
ORN	Vert à bleu	Jaune à jaune-vert	Toute couleur jaune doit être enregistrée comme résultat négatif.
IND	Anneau rouge	Jaune	Toute couleur rouge doit être enregistrée comme résultat positif.
PRO NGL ZAR	Rouge à magenta	Jaune à orange	Les résultats doivent être enregistrés après 3–5 minutes. Une faible réaction du ZAR est indiquée par un aspect trouble.

Graphique d'interprétation biochimique

Well	Positif	Négatif	Remarques
AGL	Jaune	Clair	Toute couleur jaune doit être enregistrée comme résultat positif. Utiliser le puits IND avant l'ajout d'un réactif comme contrôle négatif.
STA BL	Jaune à jaune-orange	Rouge à orange	Toute couleur jaune doit être considérée comme résultat positif.
LOC	Pour l'alignement des plaques du système autoSCAN-4 et WalkAway		

Réactions

Indoxyl Phosphatase (IDX) : la phosphatase alcaline divise l'indoxyl phosphate en indoxyl libre qui se combine à l'oxygène moléculaire pour former un composé bleu insoluble.

Nitrate (NO₃) : la capacité d'un organisme à réduire le nitrate en nitrite est détectée par l'ajout d'acide sulfanilique et de N,N-Diméthyl- α -Naphthylamine, qui produit une couleur rouge en présence de nitrite.

Nitrite (NO₂) : la capacité d'un organisme à réduire le nitrite en gaz de nitrite libre est détectée par l'ajout d'acide sulfanilique et de N,N-Diméthyl- α -Naphthylamine. En présence de nitrite, une couleur rouge se développe, ce qui constitue un test négatif. Si aucune couleur se développe, le nitrite a été réduit et le test est positif.

Utilisation des glucides (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) : l'utilisation de glucides spécifiques entraîne la formation d'acide et la chute du pH qui en résulte est indiquée par le rouge de phénol.

β -Galactosidase (GAL) : la β -galactosidase hydrolyse l'o-nitrophényle- β -D-galactopyranoside qui libère de l'o-nitrophénol de couleur jaune.

α -Glucosidase (AGL) : la α -glucosidase hydrolyse le p-nitrophenyl- α -D-glucoside qui libère le p-nitrophénol de couleur jaune.

Urée (URE) : l'enzyme uréase coupe l'urée en formant de l'ammoniaque et l'augmentation du pH qui en résulte est détectée par le rouge de phénol.

Ornithine (ORN) : la décarboxylation de l'ornithine entraîne l'alcanisation du milieu, qui est détectée par le bleu de bromothymol indicateur de pH.

Indole (IND) : le métabolisme du tryptophane conduit à la formation d'indole, qui est détecté par l'ajout de réactif indole HNID. En présence d'indole, un anneau rouge se forme.

Peptidases (PRO, NGL, ZAR) : la capacité d'un organisme à produire une enzyme peptidase spécifique est déterminée par la division de l'acide aminé approprié avec sa liaison au β -naphthylamide. Le β -naphthylamide libre est alors détecté par la formation d'un complexe avec le p-diméthylaminocinnamaldéhyde produisant une couleur rouge à magenta.

β -Lactamase (BL) : la pénicilline G est dégradée par le β -lactamase à l'acide pénicilloïque. La modification du pH est détectée par l'indicateur rouge de phénol.

Identification de l'organisme

Le MicroScan HNID Biotype Codebook (Livre de code du biotype HNID MicroScan) est utilisé pour identifier les organismes de test inconnus. Ce livre de code a été généré à partir de la base de données d'informations compilées de MicroScan à partir de tests sur la plaque HNID.

Le Biotype Codebook (Livre de code des biotypes) fournit une analyse informatique des 17 tests pour identifier les organismes inconnus. Ces tests sont traduits en un « numéro de biotype » à 6 chiffres, grâce auquel le livre de code indique l'identification des organismes et sa probabilité relative. Consulter le HNID Biotype Codebook (Livre de code des biotypes HNID) pour connaître la procédure et générer un numéro de biotype. Lorsqu'un seul organisme est indiqué pour un numéro de biotype, la probabilité relative est de 99,9 %. Si plus d'une identification d'espèce est possible pour un numéro de biotype particulier, toutes les possibilités sont indiquées dans l'ordre décroissant de probabilité, jusqu'à une probabilité totale cumulée de 99,9 %.

Si un numéro de biotype qui ne figure pas dans le livre de code apparaît, nous suggérons de refaire le test à partir d'une nouvelle culture. Si les résultats sont identiques après répétition du test, consulter l'outil Biotype Lookup (Recherche de biotype) sur le site internet de Beckman Coulter ou contacter votre revendeur local.

LIMITATIONS DE LA MÉTHODE

1. Si plusieurs identifications d'espèce sont indiquées pour un numéro de biotype particulier, des tests supplémentaires peuvent être nécessaires pour garantir l'exactitude de l'identification. Des tests pour d'autres critères, comme les facteurs X et V ainsi que l'aérotolérance, doivent également être effectués.
2. Seules les espèces *Haemophilus*, les espèces *Neisseria*, les *Branhamella catarrhalis* et les *Gardnerella vaginalis* peuvent être testées. Ne pas utiliser ce produit pour d'autres organismes coccobacillaires.
3. L'interprétation des résultats des tests exige de faire appel à du personnel clinique formé qui doit faire preuve de jugement, avoir recours aux connaissances et utiliser les tests de confirmation nécessaires avant d'accepter l'identification d'un organisme. Consulter les notes de bas de page indiquées dans le HNID Biotype Codebook (Livre de code des biotypes HNID) ou le Microbiology Information Manual (Manuel d'informations sur la microbiologie).

- Les numéros de biotype ne doivent pas être utilisés pour l'identification phénotypique des souches isolées à partir de divers échantillons sur un même patient.
- Les recommandations CLSI M7-A7, Vol. 26, N.° 2 recommande le test β -Lactamase à la nitrocéfine pour tester les *Branhamella catarrhalis*¹⁷.
- Les groupes de biotype pour *Haemophilus* sp. ne sont pas corrélés avec les sérotypes ; autrement dit, *Haemophilus influenzae* II n'appartient pas nécessairement au groupe B. La sérotypie est nécessaire.
- Occasionnellement, certaines souches de *N. meningitidis* ne produisent pas d'acide à partir du maltose. Ces souches peuvent donner une identification incorrecte de *N. gonorrhoeae* si le puits NGL est également négatif. Consulter les notes de bas de page indiquées dans le HNID Biotype Codebook (Livre de code des biotypes HNID) ou le Microbiology Information Manual (Manuel d'informations sur la microbiologie).
- Les isolats de *H. haemolyticus* croissant sur la gélose chocolat peuvent être identifiés à tort comme étant *H. influenzae*. L'hémolyse sur gélose de sang de cheval peut être utilisée pour distinguer *H. haemolyticus* de *H. influenzae*.

VALEURS ATTENDUES

Consulter le graphique de réaction positive HNID en pourcentage pour connaître les résultats attendus pour chaque test et chaque espèce. (Voir tableau 3.)

Tableau 3 Graphique de probabilité Réactions positives HNID en pourcentage ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
Espèces <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Les valeurs des interprétations des réactions positives indiquées dans ce tableau ne correspondent pas à des pourcentages réels, mais constituent une représentation fondée sur des données publiées et sur les résultats obtenus par MicroScan.

2. *Haemophilus influenzae* VI-1 est le biotype V de la classification de biotypes d'Oberhofer. *Haemophilus influenzae* VI-2 est le biotype VI de la classification de biotypes de Kilian¹⁸.

Les réactions prévues ont été exprimées par neuf valeurs :					
Valeur	Signification	Valeur	Signification	Valeur	Signification
1	Réaction pos. très rare	25	Réaction négative majoritaire	90	Réaction nég. peu commune
5	Réaction pos. rare	50	Réaction pos. ou nég.	95	Réaction nég. rare
10	Réaction pos. peu commune	75	Réaction positive majoritaire	99	Réaction nég. très rare

CONTRÔLE DE QUALITÉ

La pureté de la culture doit être contrôlée en préparant une sous-culture à partir de la suspension d'inoculum sur un milieu gélosé adéquat. Les résultats d'analyse ne sont pas valides si une culture mixte est détectée. L'acceptabilité du milieu d'identification peut être vérifiée par un test avec les souches suivantes : (tableau 4)

Tableau 4

Graphique de contrôle de qualité

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Il est possible d'obtenir un résultat positif avec les *Neisseria mucosa* ATCC 49233.

2. Il est possible d'obtenir un résultat positif avec les *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.

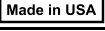
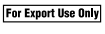
3. Il est possible d'obtenir un résultat positif avec les *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

DÉCLARATION DE GARANTIE

Le système est couvert par les clauses de la garantie incluse dans votre contrat concernant le système ou ses réactifs. Le client est responsable des procédures de maintenance préventive courantes. Les réparations dues à la non-exécution de ces procédures de maintenance aux intervalles spécifiés sont réalisées à la discrétion de Beckman Coulter et aux frais du client.

Légende des symboles

Légende des symboles			
Symbole	Titre du symbole	Description de la norme	Étalon
	Ne pas réutiliser	Indique qu'un dispositif médical est destiné à une seule utilisation ou à une utilisation sur un seul patient au cours d'une seule procédure.	ISO 15223-1 ; 5.4.2
	Date de péremption	Indique la date à partir de laquelle le dispositif médical ne doit plus être utilisé.	ISO 15223-1 ; 5.1.4
	Numéro de lot	Indique le numéro de lot du fabricant afin que le lot puisse être identifié.	ISO 15223-1 ; 5.1.5
	Numéro de catalogue	Indique la référence catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être identifié.	ISO 15223-1, clause 5.1.6
	Fabricant	Indique le fabricant du dispositif médical, tel que défini dans les directives européennes 90/385/CEE, 93/42/CEE et 98/79/CE.	ISO 15223-1, clause 5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date à laquelle le dispositif médical a été fabriqué.	ISO 15223-1 ; 5.3.1
	Représentant autorisé dans l'Union européenne	Indique le représentant autorisé dans l'Union européenne.	ISO 15223-1, clause 5.1.2

Légende des symboles			
Symbole	Titre du symbole	Description de la norme	Étalon
	Contenance suffisante pour <n> tests	Indique le nombre total de tests de DIV pouvant être effectués avec le DIV. (Généralement inclus dans les coffrets de réactifs).	ISO 15223-1 ; 5.5.5
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	Indique un dispositif médical qui est destiné à une utilisation en tant que dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, clause 5.5.1
	Limites de température	Indique les limites de température auxquelles le dispositif médical peut être exposé en toute sécurité.	ISO 15223-1 ; 5.3.7
	Consulter le mode d'emploi	Indique que l'utilisateur doit consulter le mode d'emploi.	ISO 15223-1 ; 5.4.3
	Marquage CE	Marque réglementaire de conformité européenne	S/O
	Contenu	S/O	S/O
	Contenu (emballage)	Agent antimicrobien (abréviation)	S/O
	Contenu (emballage)	Substrat pour l'identification (abréviation)	S/O
	Fiche technique santé-sécurité	Indique une fiche de données de sécurité.	S/O
	Made in USA	S/O	S/O
	Réservé à l'export uniquement	S/O	S/O
	Volume de reconstitution	S/O	S/O
	Fragile, manipuler avec précautions	Indique un dispositif médical pouvant être cassé ou endommagé s'il n'est pas manipulé avec soin.	ISO 15223-1 ; 5.3.1
	Sens indiqué vers le haut	Indique le sens d'orientation adéquat	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical devices — Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied. Part 1: General Requirements. (ISO 15223-1 : dispositifs médicaux — Symboles à utiliser avec les étiquettes, l'étiquetage et les informations à fournir relatifs aux dispositifs médicaux. Partie 1 : exigences générales.)			

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

MicroScan

HNID Procedural Manual (HNID-Verfahrensanleitung)

[REF] B1012-10B

VERWENDUNGSZWECK

Das HNID-System wurde zur schnellen Identifikation und Erkennung der β -Lactamase-Produktion in der *Neisseria*-Spezies, *Haemophilus*-Spezies, *Branhamella catarrhalis* und *Gardnerella vaginalis* entwickelt. Eine Biotypisierung von *Haemophilus influenzae* und *Haemophilus parainfluenzae* kann ebenfalls durchgeführt werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND PRINZIP

Modifizierte konventionelle und chromogene Tests werden für die Identifikation von anspruchsvollen gramnegativen Kokken und Bakterien verwendet.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Eine 3 McFarland-Suspension des zu testenden Organismus wird in einer speziellen Inokulum-Bouillon hergestellt. Das HNID-Panel ist rehydriert und durch die Bouillon beimpft und für 4 Stunden inkubiert. Nach der Inkubation werden pH-Veränderungen und die Verwendung bestimmter Substrate oder anderer biochemischer Reaktionen für die Identifizierung interpretiert. Eine schnelle acidimetrische Methode wird für die Erkennung des Enzyms β -Lactamase verwendet.^{13,14,15}

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

HNID-Panels und -Reagenzien sind nur zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum. Nicht zulassen, dass Peptidase-Reagenzien oder HNID-Indol-Reagenzien in Kontakt mit Augen, Haut oder Kleidung kommen. Während der Handhabung ist steril vorzugehen, und es sind Vorsichtsmaßnahmen gegen mikrobiologische Gefahren zu ergreifen. Besondere Vorsicht ist geboten, da beimpfte Panels potenziell pathogene Organismen enthalten.

LAGERUNG

Zwischen 2–8 °C lagern. Nach der Rehydratation mit HNID-Inokulum-Bouillon das Panel entsorgen, falls irgendein Substrat eine positive Reaktion zu haben scheint. Siehe die Tabelle zur biochemischen Interpretation für positive Farbreaktionen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft



Das Sicherheitsdatenblatt ist auf techdocs.beckmancoulter.com verfügbar.

GEWINNUNG UND AUFBEREITUNG DES PROBENMATERIALS

Proben werden gemäß den Laborverfahren gesammelt und auf ein primäres Isolationsmedium übertragen, wie im *Manual of Clinical Microbiology* (Handbuch der klinischen Mikrobiologie) beschrieben wird.¹⁶

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

HNID-Panel (B1012-10B)

Verfahrensanleitung

HNID Biotype Codebook (HNID-Biotyp-Codebuch)

Arbeitsblatt

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

HNID-Inokulum-Bouillon (B1015-16)

Peptidase-Reagenz (B1012-30B)

Abdeckplatte (B1010-56B)

Mineralöl, 60 mL (B1010-40)

Mineralöl, 250 mL (B1010-40A) – NUR für WalkAway SI-Instrumente (und WalkAway-Instrumente, die mit der automatischen Ölüberschichtungsfunktion ausgerüstet sind)

0,5 % N,N-Dimethyl- α -Naphthylamin (B1010-45A)

HNID-Indol-Reagenz (B1015-15)

0,8%ige Sulfanilsäure (B1010-44A)

50- μ L-Pipettierhilfe mit sterilen Spitzen

Sterile Holzapplikatorstäbchen oder sterile Impföse

3 McFarland-Bariumsulfat-Trübungsstandard

4 McFarland-Bariumsulfat-Trübungsstandard

Vortexmischer

35–37 °C CO₂-freier Inkubator

Qualitätskontrollorganismen:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

DURCHFÜHRUNG

1. Vorbereitung der Panels

Panel aus der Kühlung entfernen und **sofort** aus dem Folienbeutel entfernen. **Panels sollten nicht verwendet werden, wenn das Trockenmittel fehlt oder zerbrochen ist oder wenn die Unversehrtheit der Verpackung nicht mehr gegeben ist (geöffnet, eingerissen oder beschädigt).** Das Panel und die HNID-Inokulum-Bouillon vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen lassen. Panels können aufeinandergestapelt werden. Ganz oben eine saubere Abdeckplatte aufsetzen.

2. Organismus-Zubereitung

Übertragen Sie mithilfe eines sterilen Applikatorstäbchens oder einer sterilen Impföse ausreichend morphologisch ähnliche Kolonien von einer 18–24 Stunden primären Isolationsplatte (Blut-, Schokoladen-, GV- oder Thayer-Martin-Agar) zu der HNID-Inokulum-Bouillon, die mit einem 3 McFarland-Bariumsulfat-Trübungsstandard vergleichbar ist. Bei *Neisseria*-Spezies ist ein 4 McFarland-Bariumsulfat-Trübungsstandard vorzuziehen. Mischen Sie die Inokulum-Bouillon mit Vortex, bevor Sie das Panel beimpfen. Verwenden Sie nicht weniger als einen 3 McFarland-Bariumsulfat-Trübungsstandard, um ein beliebiges HNID-Panel zu beimpfen.

3. Inokulation

50 µL (0,05 mL) der Inokulum-Bouillon zu jeder etikettierten Vertiefung des HNID-Panels hinzufügen. Eine 50 µL-Pipettierhilfe mit steriler Spitze sollte verwendet werden. MicroScan empfiehlt nach der Inokulation eines jeden Panels eine Subkultur mit 1 Tropfen der überschüssigen Inokulum-Bouillon als Reinheitsprüfung auf ein geeignetes Medium anzulegen.

HINWEIS: Für die Verwendung mit autoSCAN-4- und WalkAway-Systemen muss die LOC-Vertiefung ebenfalls rehydriert werden.

4. Ölüberschichtungen bestimmter biochemischer Substrate

Die URE-Vertiefung mit 2–3 Tropfen Mineralöl aus einer Tropferflasche überschichten. Die Medien in der Vertiefung sollten vollständig überschichtet sein, aber die Vertiefung sollte nicht überfüllt sein.

HINWEIS: WalkAway SI-Instrumente (sowie WalkAway-Instrumente, die mit der automatischen Ölüberschichtungsfunktion ausgerüstet wurden) fügen der URE-Vertiefung automatisch Öl hinzu.

5. Inkubation

Die beimpften Panels 4 Stunden lang bei 35–37 °C in einem CO₂-freien Inkubator inkubieren. Panels in Gruppen von 4 bis 5 mit einer Abdeckplatte über dem obersten Panel stapeln, um Verdunstung zu vermeiden.

6. Visuelles Ablesen oder vom touchSCAN-Panel

A. Nach 4-stündiger Inkubation bei 35–37 °C sollten die Tests, die nicht das Hinzufügen von Reagenzien (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA und BL) erfordern, als Erstes abgelesen werden.

B. Reagenzien wie folgt hinzufügen:

a. PRO, NGL, ZAR

1 Tropfen Peptidase-Reagenz zu den Vertiefungen PRO, NGL und ZAR hinzufügen. Der Farbreaktion 3–5 Minuten geben, damit sie sich entwickeln kann.

b. NO₃, NO₂

1 Tropfen 0,8 %ige Sulfanilsäure und 1 Tropfen 0,5 %iges N,N-Dimethyl-α-Naphthylamin zu den Vertiefungen NO₃ und NO₂ zugeben. Der Farbreaktion 3–5 Minuten geben, damit sie sich entwickeln kann.

c. IND

1–2 Tropfen des HNID-Indol-Reagenz zu der IND-Vertiefung hinzufügen. Die Färbung entwickelt sich sofort.

*American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA

- C. Die Reaktionen gemäß der Tabelle zur biochemischen Interpretation interpretieren und Ergebnisse auf dem bereitgestellten Arbeitsblatt aufzeichnen oder die positiven Reaktionen mittels des touchSCAN-Lesers eingeben.

Tabelle 1, Substrate

Substrate	Abk.	Substrate	Abk.
Indoxyl-phosphat	IDX	Harnstoff	URE
Nitrat	NO ₃	Ornithin	ORN
Nitrit	NO ₂	Indol	IND
Glucose	GLU	L-Prolin-β-Naphthylamid	PRO
Saccharose	SUC	N-γ-L-Glutamyl-β-Naphthylamid	NGL
Maltose	MAL	N-α-Benzoyl-DL-Arginin-β-Naphthylamid	ZAR
Fructose	FRU	p-Nitrophenyl-α-D-Glucoside	AGL
Lactose	LAC	Stärke	STA
o-Nitrophenyl-β-D-Galactosid	GAL	β-Lactamase (Penicillin)	BL

7. autoSCAN-4-Panelablesung

- Nach 4-stündiger Inkubation bei 35–37 °C die GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA und BL vor dem Hinzufügen von Reagenzien mit Mineralöl überschichten.
- Reagenzien wie folgt hinzufügen:
 - PRO, NGL, ZAR
1 Tropfen Peptidase-Reagenz zu den Vertiefungen PRO, NGL und ZAR hinzufügen. Der Farbreaktion 3–5 Minuten geben, damit sie sich entwickeln kann.
 - NO₃, NO₂
1 Tropfen 0,8 %ige Sulfanilsäure und 1 Tropfen 0,5 %iges N,N-Dimethyl-α-Naphthylamin zu den Vertiefungen NO₃ und NO₂ zugeben. Der Farbreaktion 3–5 Minuten geben, damit sie sich entwickeln kann.
 - IND
1–2 Tropfen des HNID-Indol-Reagenz zu der IND-Vertiefung hinzufügen. Die Färbung entwickelt sich sofort.
- Nachdem sich jede Reaktion über den entsprechenden Zeitraum entwickelt hat, das Panel zum Ablesen in den autoSCAN-4 einführen.

8. WalkAway-Systeme Panelablesung

- Nach 4-stündiger Inkubation werden jene Tests, die nicht das Hinzufügen von Reagenzien (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA und BL) erfordern, als Erstes abgelesen.
- Das WalkAway fügt dann die entsprechenden Reagenzien den Folgenden hinzu: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ und IND. Diese Reaktionen werden dann interpretiert.

HINWEIS: Das WalkAway liest Vertiefungen ab, die aufgrund von Dämpfen der Reagenzien, die möglicherweise unter dem Plattendeckel eingeschlossen sind, zunächst keine Reagenzien benötigen, um veränderte Ergebnisse zu vermeiden. Deshalb können biochemische Reaktionen nicht manuell verifiziert werden.

ERGEBNISSE

Tabelle 2

Tabelle zur biochemischen Interpretation

Well	Positiv	Negativ	Hinweise
IDX	Blaue bis graue Ausfällung	Klar	
NO ₃	Rosa, rot bis magenta	Klar bis gelb	Ergebnisse nach 3–5 Minuten abgelesen.
NO ₂	Klar bis gelb	Rosa, rot bis magenta	Ergebnisse nach 3–5 Minuten abgelesen.
GLU SUC LAC	Orange bis gelb	Rot bis rot/orange	Jede rötliche Farbe sollte als negativ abgelesen werden.
FRU	Gelb bis gelb/orangefarben	Rot bis orange	Jede gelbliche Farbe sollte als positiv abgelesen werden.
MAL	Gelb	Rot bis gelb/orange	
GAL	Gelb	Klar	Ein helles Gelb ist positiv. Die IND-Vertiefung vor dem Hinzufügen des Reagenz als eine negative Kontrolle verwenden.
URE	Rot bis magenta	Gelb bis blassrosa	
ORN	Grün bis blau	Gelb bis gelb/grün	Jede gelbliche Farbe sollte als negativ abgelesen werden.

Tabelle zur biochemischen Interpretation

Well	Positiv	Negativ	Hinweise
IND	Roter Ring	Gelb	Jede rötliche Farbe sollte als positiv abgelesen werden.
PRO NGL ZAR	Rot bis magenta	Gelb bis orangefarben	Ergebnisse sollten innerhalb von 3–5 Minuten abgelesen werden. Eine schwache ZAR-Reaktion wird durch eine getrübbte Erscheinung angedeutet.
AGL	Gelb	Klar	Jede gelbliche Farbe sollte als positiv abgelesen werden. Die IND-Vertiefung vor dem Hinzufügen des Reagenz als negative Kontrolle verwenden.
STA BL	Gelb bis gelb/orangefarben	Rot bis orange	Jede gelbliche Farbe sollte als positiv betrachtet werden.
LOC	Für autoSCAN-4- und WalkAway-System-Panelausrichtung		

Reaktionen

Indoxylphosphatase (IDX) – Alkalische Phosphatase spaltet Indoxylphosphat in freies Indoxyl, welches sich mit molekularem Sauerstoff kombiniert, um eine unlösliche blaue Verbindung zu bilden.

Nitrat (NO_3) – Die Fähigkeit eines Organismus, Nitrat zu Nitrit zu reduzieren, wird bei Vorhandensein von Nitrit durch eine Rotfärbung durch das Hinzufügen von Sulfanilsäure und N,N-Dimethyl- α -Naphthylamin erkannt.

Nitrit (NO_2) – Die Fähigkeit eines Organismus, Nitrit zu freiem Stickstoffgas zu reduzieren, wird durch das Hinzufügen von Sulfanilsäure und N,N-Dimethyl- α -Naphthylamin erkannt. In der Anwesenheit von Nitrit entwickelt sich eine rote Farbe, was ein negativer Test ist. Wenn sich keine Farbe entwickelt, wurde das Nitrit reduziert und der Test ist ein positiver Test.

Kohlenhydratverwendung (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) – Die Verwendung eines bestimmten Kohlenhydrats ergibt eine Säurebildung mit dem einhergehenden pH-Abfall, der durch den Phenolrot-Indikator angezeigt wird.

β -Galactosidase (GAL) – β -Galactosidase hydrolisiert o-Nitrophenyl- β -D-Galactopyranosid, wodurch das gelbe o-Nitrophenol freigesetzt wird.

α -Glucosidase (AGL) – α -Glucosidase hydrolisiert p-Nitrophenyl- α -D-Glucoside, wodurch das gelb gefärbte p-Nitrophenol freigegeben wird.

Harnstoff (URE) – Das Enzym Urease spaltet Harnstoff unter Bildung von Ammoniak, wobei der sich daraus ergebende pH-Anstieg durch einen Phenolrot-Indikator erkannt wird.

Ornithin (ORN) – Die Decarboxylierung von Ornithin führt zu einer Alkalisierung der Medien, was durch den pH-Indikator Bromthymolblau erkannt wird.

Indol (IND) – Der Stoffwechsel von Tryptophan führt zur Bildung von Indol, was durch das Hinzufügen des HNID-Indol-Reagenz erkannt wird. Wenn Indol vorhanden ist, bildet sich ein roter Ring.

Peptidasen (PRO, NGL, ZAR) – Die Fähigkeit eines Organismus, ein spezielles Peptidase-Enzym herzustellen, wird bestimmt durch die Teilung der entsprechenden Aminosäure von ihrer Verbindung mit β -Naphthylamid. Das freie β -Naphthylamid wird dann durch die Bildung eines Komplexes mit p-Dimethyl-Aminocinnamaldehyd erkannt, wodurch eine rötliche bis magentafarbene Farbe produziert wird.

β -Lactamase (BL) – Penicillin G zerfällt durch β -Lactamase zu Penicillinsäure. Die pH-Änderung wird durch einen Phenolrot-Indikator erkannt.

Organismusidentifikation

Das HNID Biotyp Codebook (HNID-Biotyp-Codebuch) von MicroScan wird für die Identifikation unbekannter Testorganismen verwendet. Dieses Codebuch wurde durch MicroScans Datenbank von Informationen erstellt, die von Tests auf dem HNID-Panel zusammengestellt wurden.

Das Biotyp-Codebuch bietet 17 Tests für die Computeranalyse, um unbekannte Organismen zu identifizieren. Diese Tests werden in eine 6-stellige „Biotypnummer“ übersetzt, für die das Codebuch die Organismusidentifikation und dessen relative Wahrscheinlichkeit auflistet. Siehe das HNID Biotyp Codebook (HNID-Biotyp-Codebuch) für das Verfahren zur Generierung einer Biotypnummer. Wenn nur ein Organismus für eine Biotypnummer aufgelistet wird, dann ist die relative Wahrscheinlichkeit 99,9 %. Wenn mehr als eine Speziesidentifikation für eine spezielle Biotypnummer möglich ist, dann werden alle Möglichkeiten in der Reihenfolge der höchsten Wahrscheinlichkeit bis zu einer kumulativen Gesamtwahrscheinlichkeit von 99,9 % ausgedruckt.

Sollte eine Biotypnummer auftreten, die nicht im Codebuch ist, empfehlen wir, den Test mit einer frischen Kultur zu wiederholen. Wenn eine Testwiederholung zu den gleichen Ergebnissen führt, den Biotyp-Suchservice auf der Beckman Coulter-Website nutzen oder an den Händler vor Ort wenden.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Sollte mehr als eine Speziesidentifikation für eine bestimmte Biotypnummer aufgelistet werden, sind möglicherweise Zusatztests für eine korrekte Identifizierung erforderlich. Das Testen auf andere Kriterien hin, wie beispielsweise X- und V-Faktoren und Aerotoleranz, sollte ebenfalls durchgeführt werden.

- Nur *Haemophilus*-Spezies, *Neisseria*-Spezies, *Branhamella catarrhalis* und *Gardnerella vaginalis* können getestet werden – Dieses Produkt nicht für andere Kugelbakterienorganismen verwenden.
- Die Interpretation von Testergebnissen erfordert geschultes klinisches Personal. Alle Organismusidentifikationen sind unter Anwendung des geschulten klinischen Urteils und einschlägiger Fachkenntnisse sowie ggf. zusätzlicher Bestätigungstests zu überprüfen. Bitte die Fußnoten beachten, die in dem HNID Biotyp Codebook (HNID-Biotyp-Codebuch) oder dem Microbiology Information Manual (Handbuch für mikrobiologische Informationen) aufgelistet sind.
- Biotypnummern sind für die Phänotypidentifikation von Stämmen, die aus verschiedenen Proben desselben Patienten isoliert wurden, nicht heranzuziehen.
- Die CLSI-Richtlinien M7-A7, Band 26, Nr. 2 empfehlen β -Lactamase-Tests auf Nitrocefinbasis für das Testen von *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
- Biotypgruppen für *Haemophilus* sp. korrelieren nicht mit Serotypen, d. h. dass *Haemophilus influenzae* II nicht eindeutig Gruppe B ist. Eine Serotypisierung ist erforderlich.
- Gelegentlich produzieren einige Stränge von *N. meningitidis* keine Säure aus Maltose. Diese Stränge geben möglicherweise eine fehlerhafte Identifikation von *N. gonorrhoeae*, falls NGL ebenfalls negativ ist. Bitte die Fußnoten beachten, die in dem HNID Biotyp Codebook (HNID-Biotyp-Codebuch) oder dem Microbiology Information Manual (Handbuch für mikrobiologische Informationen) aufgelistet sind.
- H. haemolyticus*-Isolate, die auf Schokoladen-Agar wachsen, können fälschlicherweise als *H. influenzae* identifiziert werden. Eine Hämolyse auf Pferdeblut-Agar kann verwendet werden, um *H. haemolyticus* von *H. influenzae* zu unterscheiden.

ERWARTETE WERTE

Siehe das Diagramm HNID-Prozentsatz positiver Reaktionen für die erwarteten Ergebnisse für jeden Test und jede Spezies. (Siehe Tabelle 3.)

Tabelle 3 Wahrscheinlichkeitsdiagramm HNID-Prozentsatz positiver Reaktionen ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Neisseria</i> -Spezies	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Interpretationswerte positiver Reaktionen, die in dieser Tabelle gezeigt werden, sind nicht tatsächliche Prozentsätze, sondern eine Repräsentation basierend auf veröffentlichten Daten und MicroScan-Ergebnissen.
 2. *Haemophilus influenzae* VI-1 ist der Biotyp der Oberhofer-Biotypklassifikation. *Haemophilus influenzae* VI-2 ist der Biotyp VI der Kilian-Biotypklassifikation.¹⁸

Erwartete Reaktionen wurden durch neun Werte ausgedrückt:					
Wert	Bedeutung	Wert	Bedeutung	Wert	Bedeutung
1	Pos. Reaktion sehr selten	25	Hauptreaktion negativ	90	Neg. Reaktion unüblich
5	Pos. Reaktion selten	50	Pos. oder Neg. Reaktion	95	Neg. Reaktion selten
10	Pos. Reaktion unüblich	75	Hauptreaktion positiv	99	Neg. Reaktion sehr selten

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Reinheit der Kultur sollte durch Subkultivierung von der Inokulumsuspension auf geeignete Agar-Medien geprüft werden. Testergebnisse sind ungültig, wenn eine gemischte Kultur angezeigt wird. Die Eignung der Identifikationsmedien kann überprüft werden, indem mit den folgenden Stämmen getestet wird: (Tabelle 4.)

Tabelle 4

Qualitätskontrolltabelle

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Ein positives Ergebnis kann mit *Neisseria mucosa* ATCC 49233 erzielt werden.

2. Ein positives Ergebnis kann mit *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130 erzielt werden.

3. Ein positives Ergebnis kann mit *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145 erzielt werden.

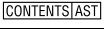
GARANTIEERKLÄRUNG

Das System unterliegt den in Ihrer Vertragsvereinbarung für das System bzw. die dazugehörigen Reagenzien enthaltenen Garantiebestimmungen. Der Kunde ist für die Durchführung routinemäßiger vorbeugender Wartungsarbeiten verantwortlich. Reparaturen, die aufgrund nicht in den vorgegebenen Zeitabständen erfolgter Wartungsmaßnahmen entstehen, werden nach dem Ermessen von Beckman Coulter durchgeführt und dem Kunden in Rechnung gestellt.

Liste der Symbole

Liste der Symbole			
Symbol	Symbolbezeichnung	Beschreibung der Norm	Standard
	Nicht wiederverwenden	Weist auf ein medizinisches Gerät hin, das für eine einmalige Anwendung oder für einen einzelnen Patienten während eines einzigen Eingriffs bestimmt ist.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Verfallsdatum	Gibt das Datum an, nach dem das medizinische Gerät nicht mehr verwendet werden soll.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Seriencode	Gibt den Seriencode des Herstellers an, damit die Serie oder die Charge identifiziert werden kann.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Katalognummer	Gibt die Katalognummer des Herstellers an, damit das medizinische Gerät identifiziert werden kann.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.1.6
	Hersteller	Gibt den Hersteller von medizinischen Geräten im Sinne der EU-Richtlinien 90/385/EWG, 93/42/EWG und 98/79/EG an.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.1.1
	Herstellungsdatum	Gibt das Datum an, an dem das medizinische Gerät hergestellt wurde.	ISO 15223-1; 5.3.1

Liste der Symbole

Symbol	Symbolbezeichnung	Beschreibung der Norm	Standard
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft	Gibt die autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft an.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.1.2
	Enthält ausreichend für <n>-Tests	Gibt die Gesamtzahl der IVD-Tests an, die mit der IVD durchgeführt werden können. (In der Regel in Reagenzkits enthalten).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Medizinisches Gerät für die <i>In-Vitro</i> -Diagnostik	Gibt ein medizinisches Gerät an, das als medizinisches Gerät für die <i>In-vitro</i> -Diagnostik eingesetzt werden soll.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.5.1
	Temperaturgrenzen	Gibt die Temperaturgrenzwerte an, denen das medizinische Gerät sicher ausgesetzt werden kann.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Siehe Gebrauchsanweisung	Zeigt an, dass der Benutzer die Gebrauchsanweisung beachten muss.	ISO 15223-1; 5.4.3
	CE-Kennzeichnung	Europäische Konformitätskennzeichnung	n. Z.
	Inhalt	n. Z.	n. Z.
	Inhalt (Packung)	Antibiotikum (Abkürzung)	n. Z.
	Inhalt (Packung)	Identifikationssubstrat (Abkürzung)	n. Z.
	Sicherheitsdatenblatt	Weist auf ein Sicherheitsdatenblatt hin.	n. Z.
	Made in USA	n. Z.	n. Z.
	Nur für den Export bestimmt	n. Z.	n. Z.
	Rekonstitutionsvolumen	n. Z.	n. Z.
	Zerbrechlich, mit Sorgfalt behandeln	Weist auf ein medizinisches Gerät hin, das bei nicht sachgemäßer Behandlung kaputtgehen oder beschädigt werden kann.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Diese Seite nach oben	Zeigt die richtige aufrechte Position an	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices – Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements. (ISO 15223-1: Medizinprodukte – Bei Aufschriften von Medizinprodukten zu verwendende Symbole, Kennzeichnung und zu liefernde Informationen. Teil 1: Allgemeine Anforderungen).			

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und -Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

MicroScan

Manuale delle procedure HNID

REF B1012-10B

USO PREVISTO

Il sistema HNID è studiato per l'identificazione rapida e il rilevamento della produzione di β -lattamasi nelle specie *Neisseria*, nelle specie *Haemophilus*, in *Branhamella catarrhalis* e in *Gardnerella vaginalis*. Si può eseguire anche la biotipizzazione di *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus parainfluenzae*.

RIEPILOGO E PRINCIPIO

Per l'identificazione di cocci e bacilli Gram negativi esigenti si utilizzano test cromogenici e convenzionali modificati.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Viene eseguita una sospensione 3 McFarland dell'organismo da testare in un brodo di inoculo speciale. Il pannello HNID viene reidratato e inoculato dal brodo e incubato per 4 ore. Dopo l'incubazione, le modifiche nel pH e l'utilizzo di determinati substrati o altre reazioni chimiche sono interpretati per l'identificazione. Per il rilevamento dell'enzima β -lattamasi viene utilizzato un metodo acidometrico rapido.^{13,14,15}

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti e i pannelli HNID sono solo per uso diagnostico *in vitro*. Evitare il contatto del reagente peptidasi o del reagente indolo HNID con gli occhi, la pelle o gli indumenti. Durante l'esecuzione della procedura, adottare tecniche asettiche e attenersi a tutte le precauzioni contro i rischi microbiologici, ricordando sempre che i pannelli inoculati contengono organismi potenzialmente patogeni.

CONSERVAZIONE

Conservare a una temperatura di 2–8 °C. Dopo la reidratazione con brodo di inoculo HNID, gettare il pannello se qualche substrato sembra produrre una reazione positiva. Consultare il grafico delle interpretazioni biochimiche per i colori delle reazioni positive.

CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Classificato non pericoloso



La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su techdocs.beckmancoulter.com

PRELIEVO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

I campioni vengono raccolti e collocati su terreni di coltura a isolamento primario in base alle procedure di laboratorio indicate in *Manual of Clinical Microbiology* (Manuale di microbiologia clinica).¹⁶

MATERIALI FORNITI

Pannello HNID (B1012-10B)

Manuale delle procedure

Elenco dei codici dei biotipi HNID

Foglio di lavoro

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Brodo di inoculo HNID (B1015-16)

Reagente peptidasi (B1012-30B)

Coperchio (B1010-56B)

Olio minerale, 60 mL (B1010-40)

Olio minerale, 250 mL (B1010-40A) - Per l'uso SOLO con strumenti WalkAway SI (e strumenti WalkAway aggiornati con la funzionalità di copertura automatica con olio)

0,5% N,N-dimetil- α -naftilamina (B1010-45A)

Reagente indolo HNID (B1015-15)

Acido sulfanilico 0,8% (B1010-44A)

Pipettatrice da 50 μ L con puntali sterili

Bastoncini di legno sterili o ansa per inoculazione sterile

Standard di torbidità 3 McFarland al solfato di bario

Standard di torbidità 4 McFarland al solfato di bario

Mixer vortex

Incubatore senza CO₂ a 35–37 °C

Organismi del controllo di qualità:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCEDURA

1. Preparazione dei pannelli

Estrarre il pannello dal frigorifero e toglierlo *immediatamente* dall'involucro in alluminio. **Non usare i pannelli se l'essiccante non è presente o risulta danneggiato, oppure se la confezione non è perfettamente integra (non sigillata, forata o lacerata).** Attendere che il pannello e il brodo di inoculo HNID raggiungano la temperatura ambiente prima dell'uso. I pannelli possono essere impilati e coperti con un coperchio pulito.

2. Preparazione dell'organismo

Utilizzando un bastoncino sterile o un'ansa per inoculazione sterile, trasferire un numero sufficiente di colonie morfologicamente simili da una piastra di isolamento primaria 18–24 ore (agar sangue, cioccolato, GV o Thayer Martin) al brodo di inoculo HNID comparabile a uno standard di torbidità 3 McFarland al solfato di bario. Per le specie *Neisseria* è preferibile uno standard di torbidità 4 McFarland al solfato di bario. Agitare in vortex il brodo di inoculo prima di inoculare il pannello. Non utilizzare uno standard di torbidità inferiore a 3 McFarland al solfato di bario per inoculare i pannelli HNID.

3. Inoculazione

Trasferire 50 µL (0,05 mL) di brodo di inoculo in ciascun pozzetto etichettato del pannello HNID. Utilizzare una pipettrice da 50 µL con puntale sterile. Dopo ogni inoculazione del pannello, per controllare la purezza MicroScan consiglia la sottocoltura di 1 goccia del brodo di inoculo in eccesso su un terreno adatto.

NOTA: per l'uso con i sistemi autoSCAN-4 e WalkAway, il pozzetto LOC deve anche essere reidratato.

4. Coperture con olio biochimico

Servendosi di una boccetta contagocce, coprire il pozzetto URE con 2–3 gocce di olio minerale. Il terreno nel pozzetto deve essere completamente coperto, ma il pozzetto non deve essere completamente colmo.

NOTA: gli strumenti WalkAway SI e (e gli strumenti WalkAway aggiornati con la funzione automatica di overlay dell'olio) aggiungono automaticamente l'olio al pozzetto URE.

5. Incubazione

Incubare il pannello inoculato per 4 ore a 35–37 °C in un incubatore non a CO₂. Impilare i pannelli in gruppi di 4 o 5 e collocare un coperchio sul pannello superiore per evitare l'evaporazione.

6. Lettura visiva o da pannello touchSCAN

A. Dopo 4 ore di incubazione a 35–37 °C, leggere per primi i test che non necessitano dell'aggiunta di reagenti (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA e BL).

B. Aggiungere i reagenti nel modo seguente:

a. PRO, NGL, ZAR

Aggiungere 1 goccia di reagente peptidasi nei pozzetti PRO, NGL e ZAR. Attendere 3–5 minuti affinché si sviluppi la reazione cromatica.

b. NO₃, NO₂

Aggiungere 1 goccia di acido sulfanilico allo 0,8% e 1 goccia di N,N-dimetil-α-naftilamina allo 0,5% nei pozzetti NO₃ e NO₂. Attendere 3–5 minuti affinché si sviluppi la reazione cromatica.

c. IND

Aggiungere 1–2 gocce di reagente indolo HNID nel pozzetto IND. Il colore si sviluppa immediatamente.

C. Interpretare le reazioni conformemente al grafico delle interpretazioni biochimiche e registrare i risultati sul foglio di lavoro fornito, oppure inserire le reazioni positive dal lettore touchSCAN.

Tabella 1, Substrati

Substrati	Abbr.	Substrati	Abbr.
Indossile fosfato	IDX	Urea	URE
Nitrati	NO ₃	Ornitina	ORN
Nitriti	NO ₂	Indolo	IND
Glucosio	GLU	L-prolil-β-naftilamide	PRO
Saccarosio	SUC	N-γ-L-glutamyl-β-naftilamide	NGL
Maltosio	MAL	N-α-benzoil-DL-Arginina-β-naftilamide	ZAR
Fruttosio	FRU	p-nitrofenil-α-D-glucoside	AGL
Lattosio	LAC	Amido	STA
o-nitrofenil-β-D-galattoside	GAL	β-lattamasi (penicillina)	BL

7. Lettura dei pannelli autoSCAN-4

- A. Dopo 4 ore di incubazione a 35–37 °C, coprire i pozzetti GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA e BL con olio minerale prima di aggiungere i reagenti.
- B. Aggiungere i reagenti nel modo seguente:
- PRO, NGL, ZAR
Aggiungere 1 goccia di reagente peptidasi nei pozzetti PRO, NGL e ZAR. Attendere 3–5 minuti affinché si sviluppi la reazione cromatica.
 - NO₃, NO₂
Aggiungere 1 goccia di acido sulfanilico allo 0,8% e 1 goccia di N,N-dimetil-α-naftilamina allo 0,5% nei pozzetti NO₃ e NO₂. Attendere 3–5 minuti affinché si sviluppi la reazione cromatica.
 - IND
Aggiungere 1–2 gocce di reagente indolo HNID nel pozzetto IND. Il colore si sviluppa immediatamente.
- C. Dopo aver atteso lo sviluppo di ogni reazione per il tempo appropriato, inserire il pannello in autoSCAN-4 per la lettura.

8. Lettura dei pannelli sui sistemi WalkAway

- A. Dopo 4 ore di incubazione, leggere per primi i test che non necessitano dell'aggiunta di reagenti (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA e BL).
- B. Il sistema WalkAway aggiunge quindi i reagenti appropriati nei seguenti pozzetti: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ e IND. Le reazioni vengono quindi interpretate.

NOTA: il sistema WalkAway legge prima i pozzetti che non richiedono l'aggiunta di reagenti per evitare risultati alterati causati da eventuali fumi dei reagenti intrappolati sotto il coperchio. Le reazioni biochimiche non possono pertanto essere verificate manualmente.

RISULTATI**Tabella 2**

Grafico delle interpretazioni biochimiche			
Well	Positivo	Negativo	Note
IDX	Precipitato da blu a grigio	Chiaro	
NO ₃	Rosa, da rosso a fucsia	Da trasparente a giallo	Risultati registrati dopo 3–5 minuti.
NO ₂	Da trasparente a giallo	Rosa, da rosso a fucsia	Risultati registrati dopo 3–5 minuti.
GLU SUC LAC	Da arancione a giallo	Da rosso a rosso/arancione	Ogni gradazione del colore rosso deve essere registrata come negativa.
FRU	Da giallo a giallo/arancione	Da rosso ad arancione	Ogni gradazione del colore giallo deve essere registrata come positiva.
MAL	Giallo	Da rosso a giallo/arancione	
GAL	Giallo	Chiaro	Il colore giallo pallido indica un risultato positivo. Utilizzare il pozzetto IND prima di aggiungere il reagente come controllo negativo.
URE	Da rosso a fucsia	Da giallo a rosa chiaro	
ORN	Da verde a blu	Da giallo a giallo/verde	Ogni gradazione del colore giallo deve essere registrata come negativa.
IND	Anello rosso	Giallo	Ogni gradazione del colore rosso deve essere registrata come positiva.

Grafico delle interpretazioni biochimiche

Well	Positivo	Negativo	Note
PRO NGL ZAR	Da rosso a fucsia	Da giallo ad arancione	I risultati devono essere registrati entro 3–5 minuti. Una reazione ZAR debole è indicata da un aspetto torbido.
AGL	Giallo	Chiaro	Ogni gradazione del colore giallo deve essere registrata come positiva. Utilizzare il pozzetto IND prima di aggiungere il reagente come controllo negativo.
STA BL	Da giallo a giallo/arancione	Da rosso ad arancione	Ogni gradazione del colore giallo deve essere considerata come positiva.
LOC	Per l'allineamento dei pannelli nei sistemi autoSCAN-4 e WalkAway		

Reazioni

Fosfatasi indossile (IDX): la fosfatasi alcalina divide l'indossil-fosfato in indossile libero che si combina con l'ossigeno molecolare per formare un composto blu insolubile.

Nitrato (NO₃): la capacità di un organismo di ridurre il nitrato in nitrito viene rilevata con l'aggiunta di acido sulfanilico e N,N-dimetil- α -naftilamina, che producono un colore rosso in presenza di nitrito.

Nitrito (NO₂): la capacità di un organismo di ridurre il nitrito a gas idrogeno libero viene rilevata mediante l'aggiunta di acido sulfanilico e N,N-dimetil- α -naftilamina. In presenza di nitrito, si sviluppa un colore rosso corrispondente a un test negativo. Se non si sviluppa alcun colore, il nitrito è stato ridotto e il test è positivo.

Utilizzo dei carboidrati (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA): l'utilizzo di un carboidrato specifico produce la formazione di acidi con conseguente calo del pH segnalato da un indicatore rosso fenolo.

β -galattosidasi (GAL): la β -galattosidasi idrolizza l'o-nitrofenil- β -D-galattopiranoside che libera o-nitrofenolo di colore giallo.

α -glucosidasi (AGL): α -glucosidasi idrolizza il p-nitrofenil- α -D-glucoside che libera p-nitrofenolo di colore giallo.

Urea (URE): l'enzima ureasi divide l'urea causando la formazione di ammoniaca, con l'aumento risultante del pH rilevato da un indicatore rosso fenolo.

Ornitina (ORN) - La decarbossilazione dei risultati dell'ornitina in un'alcalinizzazione del terreno di coltura rilevata dall'indicatore del pH blu di bromotimolo.

Indolo (IND): il metabolismo del triptofano comporta la formazione di indolo, rilevato mediante l'aggiunta del reagente indolo HNID. Se è presente indolo si forma un anello rosso.

Peptidasi (PRO, NGL, ZAR) - La capacità di un organismo di produrre un'enzima della peptidasi specifico viene stabilita dividendo l'amminoacido appropriato dal suo collegamento alla β -naftilamide. La β -naftilamide libera viene quindi rilevata mediante la creazione di un complesso con p-dimetilaminocinnamalaldeide che produce un colore dal rosso al fucsia.

β -lattamasi (BL) - La penicillina G viene degradata ad acido penicilloico dalla β -lattamasi. La variazione del pH è rilevata da un indicatore rosso fenolo.

Identificazione del microrganismo

Per identificare gli organismi di test ignoti, si utilizza l'elenco dei codici dei biotipi HNID MicroScan. Questo elenco è stato generato dal database di MicroScan con informazioni compilate dai test sul pannello HNID.

L'elenco dei codici dei biotipi contiene l'analisi informatica di 17 test per l'identificazione di organismi sconosciuti. Questi test sono tradotti in un "numero di biotipo" di 6 cifre per il quale l'elenco segnala l'identificazione dell'organismo e la probabilità relativa. Consultare l'elenco dei codici dei biotipi HNID per informazioni sulla procedura di generazione di un numero di biotipo. Se per un numero di biotipo è elencato un solo organismo, la probabilità relativa è del 99,9%. Se per un particolare numero di biotipo è possibile l'identificazione di più specie, tutte le possibilità vengono stampate in ordine di probabilità fino a una probabilità totale cumulativa del 99,9%.

Se compare un numero di biotipo non presente nell'elenco dei codici, si consiglia di ripetere il test da una coltura fresca. Se ripetendo il test si ottengono gli stessi risultati, consultare il servizio di ricerca biotipi sul sito Web di Beckman Coulter o rivolgersi al distributore di zona.

LIMITI DEL METODO

- Se per un particolare numero di biotipo fossero elencate più identificazioni di specie, potrebbero essere necessari ulteriori test per l'identificazione corretta. Devono inoltre essere eseguiti i test per altri criteri, quali fattori X e V e aerotolleranza.
- Solo le specie *Haemophilus*, le specie *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* e *Gardnerella vaginalis* possono essere sottoposti a test; non utilizzare questo prodotto per altri organismi coccobacillari.
- L'interpretazione dei risultati dei test richiede personale clinico addestrato che utilizzi il proprio giudizio, le proprie conoscenze e, se necessario, altri test di conferma prima di accettare l'identificazione di un organismo. Consultare le note a piè di pagina nell'elenco dei codici dei biotipi HNID o nel Microbiology Information Manual (Manuale di informazioni microbiologiche).

- I numeri di biotipo non devono essere utilizzati per l'identificazione del fenotipo dei ceppi isolati da vari campioni dello stesso paziente.
- Le linee guida di CLSI M7-A7, Vol. 26, N. 2, raccomandano il test della β -lattamasi basato su nitrocefina per il test di *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
- I gruppi di biotipi per la specie *Haemophilus* non sono correlati ai sierotipi, vale a dire che *Haemophilus influenzae* II non può essere considerato definitivamente del gruppo B. È necessaria la sierotipizzazione.
- Talvolta, alcuni ceppi di *N. meningitidis* non producono acido dal maltosio. Questi ceppi potrebbero produrre un'identificazione errata di *N. gonorrhoeae* se anche NGL è negativo. Consultare le note a piè di pagina nell'elenco dei codici dei biotipi HNID o nel Microbiology Information Manual (Manuale di informazioni microbiologiche).
- Gli isolati di *H. haemolyticus* coltivati su agar cioccolato possono essere erroneamente identificati come *H. influenzae*. Per distinguere *H. haemolyticus* da *H. influenzae* è possibile utilizzare l'emolisi su agar sangue di cavallo.

VALORI ATTESI

Consultare il grafico della percentuale delle reazioni positive HNID per i risultati attesi per questo test e ogni specie (vedere la Tabella 3).

Tabella 3 Grafico delle probabilità Percentuale delle reazioni positive HNID ¹																		
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA	
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1	
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1	
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
Specie <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1	
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99	

- I valori di interpretazione delle reazioni positive indicati in questa tabella non sono percentuali reali, bensì indicazioni basate sui dati pubblicati e sui risultati di MicroScan.
- Haemophilus influenzae* VI-1 è il biotipo della classificazione dei biotipi Oberhofer. *Haemophilus influenzae* VI-2 è il biotipo VI della classificazione dei biotipi Kilian.¹⁸

Le reazioni attese sono espresse mediante nove valori:					
Valore	Significato	Valore	Significato	Valore	Significato
1	Reazione positiva molto rara	25	Maggioranza di reazioni negative	90	Reazione negativa non comune
5	Reazione positiva rara	50	Reazione positive o negativa	95	Reazione negativa rara
10	Reazione positiva non comune	75	Maggioranza di reazioni positive	99	Reazione negativa molto rara

CONTROLLO DI QUALITÀ

La purezza della coltura va controllata con una sottocoltura dalla sospensione dell'inoculo su terreni agar adatti. I risultati del test non sono validi se viene rilevata una coltura mista. L'accettabilità del mezzo di identificazione deve essere verificata testando i seguenti ceppi (Tabella 4):

Tabella 4

Grafico del controllo di qualità

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Si può ottenere un risultato positivo con *Neisseria mucosa* ATCC 49233.
2. Si può ottenere un risultato positivo con *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.
3. Si potrebbe ottenere un risultato positivo con *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

DICHIARAZIONE DI GARANZIA

Il sistema è coperto da garanzia e soggetto alle relative disposizioni contenute nell'accordo contrattuale per il sistema o i relativi reagenti. Il cliente è responsabile delle procedure di manutenzione preventiva di routine. Gli interventi di riparazione derivanti dalla mancata esecuzione di tali procedure agli intervalli di manutenzione indicati vengono effettuati a discrezione di Beckman Coulter e sono a carico del cliente.

Elenco descrizioni simboli

Elenco descrizioni simboli			
Simbolo	Titolo del simbolo	Descrizione dello standard	Standard
	Non riutilizzare	Indica che un'apparecchiatura medica è monouso oppure intesa per l'uso da parte di un solo paziente durante un'unica procedura.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Data di scadenza	Indica la data oltre la quale non è più possibile utilizzare l'apparecchiatura medica.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Codice batch	Indica il codice lotto del produttore per la corretta identificazione del batch o del lotto.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Numero di catalogo	Indica il numero di catalogo del produttore per la corretta identificazione dell'apparecchiatura medica.	ISO 15223-1, disposizione 5.1.6
	Produttore	Indica il produttore dell'apparecchiatura medica come specificato nelle Direttive UE 90/385/CEE, 93/42/CEE e 98/79/CE.	ISO 15223-1, disposizione 5.1.1

Elenco descrizioni simboli			
Simbolo	Titolo del simbolo	Descrizione dello standard	Standard
	Data di produzione	Indica la data di produzione dell'apparecchiatura medica.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea	Indica il rappresentante autorizzato per la Comunità Europea.	ISO 15223-1, disposizione 5.1.2
	Contenuto sufficiente per <n> test	Indica il numero totale di test IVD che possono essere eseguiti con IVD. (In genere incluso nei kit reagenti).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Apparecchiatura medica per la diagnosi <i>in vitro</i>	Indica un'apparecchiatura medica intesa per l'uso come apparecchiatura medica per la diagnosi <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, disposizione 5.5.1
	Limiti di temperatura	Indica i limiti di temperatura a cui l'apparecchiatura medica può essere esposta in sicurezza.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Consultare le istruzioni per l'uso	Indica la necessità da parte dell'utente di consultare le istruzioni per l'uso.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Marchio CE	Marchio normativo europeo di conformità	N/D
	Contenuto	N/D	N/D
	Contenuto (confezione)	Agente antimicrobico (abbreviazione)	N/D
	Contenuto (confezione)	Substrato di identificazione (abbreviazione)	N/D
	Scheda tecnica sulla sicurezza	Indica la presenza di una scheda tecnica sulla sicurezza.	N/D
	Made in USA	N/D	N/D
	Destinato unicamente all'esportazione	N/D	N/D
	Volume di ricostituzione	N/D	N/D
	Fragile, maneggiare con cura	Indica un'apparecchiatura medica che si potrebbe rompere o danneggiare se non maneggiata con cura.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Lato verso l'alto	Indica la direzione della posizione corretta	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical devices - Symbols to be used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Apparecchiature medicali - Simboli da utilizzare con etichette dei dispositivi medicali e informazioni da fornire. Parte 1: Requisiti generali).			

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

MicroScan

Manual de procedimientos para HNID

REF B1012-10B

INDICACIONES

El sistema HNID está diseñado para la identificación y detección rápidas de producción de β -lactamasa en las especies *Neisseria*, *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* y *Gardnerella vaginalis*. También puede llevarse a cabo la biotipificación de *Haemophilus influenzae* y *Haemophilus parainfluenzae*.

RESUMEN Y PRINCIPIOS

Para la identificación de bacilos y cocos gramnegativos exigentes, se usan pruebas convencionales y cromogénicas.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Se crea una suspensión McFarland 3 del microorganismo que se va a analizar en un caldo de inóculo especial. El panel HNID se rehidrata e inocula a partir del caldo y se incuba durante 4 horas. Después de la incubación, los cambios en el pH, el uso de determinados sustratos u otras reacciones bioquímicas se interpretan para su identificación. Se utiliza un método acidométrico rápido para la detección de la enzima β -lactamasa.^{13,14,15}

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos y paneles HNID son exclusivamente para uso de diagnóstico *in vitro*. No permita que el reactivo de peptidasa o el reactivo de indol HNID entre en contacto con los ojos, la piel o la ropa. Siga las técnicas asépticas y las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos a lo largo del procedimiento, teniendo especial cuidado con los paneles inoculados, que contienen microorganismos potencialmente patógenos.

ALMACENAMIENTO

Almacene a una temperatura entre 2 y 8 °C. Tras la rehidratación con el caldo de inóculo HNID, deseche el panel si algún sustrato parece tener una reacción positiva. Consulte las reacciones de color positivas en el gráfico de interpretación bioquímica.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico



La hoja de datos de seguridad está disponible en techdocs.beckmancoulter.com

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras se recogen y colocan en un medio de aislamiento primario, siguiendo los procedimientos de laboratorio que se describen en el *Manual of Clinical Microbiology* (Manual de microbiología clínica).¹⁶

MATERIALES PROPORCIONADOS

Panel HNID (B1012-10B)

Manual de procedimiento

Libro de códigos de biotipos de HNID

Hoja de trabajo

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Caldo de inóculo HNID (B1015-16)

Reactivo de peptidasa (B1012-30B)

Panel cubridor (B1010-56B)

Aceite mineral, 60 mL (B1010-40)

Aceite mineral, 250 mL (B1010-40A): para su uso ÚNICAMENTE con instrumentos WalkAway SI (e instrumentos WalkAway actualizados con la función de adición de aceite automatizada)

N, N-dimetil- α -naftilamina a 0,5 % (B1010-45A)

Reactivo de indol HNID (B1015-15)

Ácido sulfanílico al 0,8 % (B1010-44A)

Pipeta de 50 μ L con puntas esterilizadas

Aplicador de madera estéril o asa de inoculación estéril

Estándar de turbidez de sulfato de bario McFarland 3

Estándar de turbidez de sulfato de bario de McFarland 4

Mezclador vorticial

Incubador sin CO₂ de 35-37 °C

Microorganismo para control de calidad:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCEDIMIENTO

1. Preparación del panel

Retire el panel de la refrigeración y extraígallo *inmediatamente* de la bolsa de aluminio. **Los paneles no deben utilizarse si no tienen desecador, si está roto, o si la integridad de la envoltura está afectada (abierta, perforada o desgarrada).** Deje que el panel y el caldo de inóculo HNID se pongan a temperatura ambiente antes de su uso. Los paneles se pueden apilar con un panel cubridor encima.

2. Preparación de microorganismo

Con un aplicador estéril o un asa de inoculación estéril, transfiera suficientes colonias similares morfológicamente desde una placa de aislamiento primario de 18-24 horas (agar de sangre, chocolate, GV o Thayer Martin) hasta el caldo de inóculo HNID comparable a un estándar de turbidez de sulfato de bario McFarland 3. Para la especie *Neisseria*, es preferible un estándar de turbidez de sulfato de bario McFarland 4. Agite en vórtex el caldo de inóculo antes de inocular el panel. No use un nivel inferior de estándar de turbidez de sulfato de bario McFarland 3 para inocular los paneles HNID.

3. Inoculación

Transfiera 50 µL (0,05 mL) de caldo de inóculo a cada pocillo etiquetado del panel HNID. Debe utilizarse una pipeta de 50 µL con punta esterilizada. Después de cada inoculación de panel, MicroScan recomienda el subcultivo de 1 gota del exceso de caldo de inóculo en un medio adecuado, como control de pureza.

NOTA: Para el uso con los sistemas autoSCAN-4 y WalkAway, el pocillo LOC también debe rehidratarse.

4. Superposiciones de aceite bioquímico

Con una botella cuentagotas, cubra el pocillo URE con 2-3 gotas de aceite mineral. El medio en el pocillo debe cubrirse completamente, pero sin rebasar el pocillo.

NOTA: Los instrumentos WalkAway SI (y los instrumentos WalkAway actualizados con la función de adición de aceite automatizada) añaden automáticamente aceite al pocillo de URE.

5. Incubación

Incuba el panel inoculado durante 4 horas a 35-37 °C en un incubador sin CO₂. Apile los paneles en grupos de 4 a 5 con un panel cubridor sobre el panel superior para evitar la evaporación.

6. Lectura de panel Visual o touchSCAN

A. Al cabo de 4 horas de incubación a 35-37 °C, deben leerse en primer lugar las pruebas que no requieran la adición de reactivos (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA y BL).

B. Añadir reactivos de la siguiente forma:

a. PRO, NGL, ZAR

Añada 1 gota de reactivo de peptidasa a los pocillos PRO, NGL y ZAR. Espere 3-5 minutos hasta que se produzca la reacción de color.

b. NO₃, NO₂

Añada 1 gota de ácido sulfanílico al 0,8 % y 1 gota de N, N-dimetil-α-naftilamina al 0,5 % a los pocillos de NO₃ y NO₂. Espere 3-5 minutos hasta que se produzca la reacción de color.

c. IND

Añada 1-2 gotas de reactivo de indol HNID al pocillo de IND. El color se desarrollará inmediatamente.

C. Interprete las reacciones de acuerdo con el gráfico de interpretación bioquímica y registre los resultados en la hoja de trabajo, o introduzca las reacciones positivas a través del lector touchSCAN.

*American Type Culture Collection, Manassas, VA, EE. UU.

Tabla 1, Sustratos

Sustratos	Abrev.	Sustratos	Abrev.
Indoxil fosfato	IDX	Urea	URE
Nitrato	NO ₃	Ornitina	ORN
Nitrito	NO ₂	Indol	IND
Glucosa	GLU	L-prolil-β-naftilamida	PRO
Sacarosa	SUC	N-γ-L-glutamil-β-naftilamida	NGL
Maltosa	MAL	N-α-benzoilo-DL-Arginina-β-naftilamida	ZAR
Fructosa	FRU	p-nitrofenil-α-D-glucósido	AGL
Lactosa	LAC	Almidón	STA
o-nitrofenil-β-D-galactósido	GAL	β-Lactamasa (penicilina)	BL

7. Lectura del panel de autoSCAN-4

- A. Al cabo de 4 horas de incubación a 35-37 °C, cubra los pocillos de GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA y BL con aceite mineral antes de añadir los reactivos.
- B. Añadir reactivos de la siguiente forma:
 - a. PRO, NGL, ZAR
Añada 1 gota de reactivo de peptidasa a los pocillos PRO, NGL y ZAR. Espere 3-5 minutos hasta que se produzca la reacción de color.
 - b. NO₃, NO₂
Añada 1 gota de ácido sulfanílico al 0,8 % y 1 gota de N, N-dimetil-α-naftilamina al 0,5 % a los pocillos de NO₃ y NO₂. Espere 3-5 minutos hasta que se produzca la reacción de color.
 - c. IND
Añada 1-2 gotas de reactivo de indol HNID al pocillo de IND. El color se desarrollará inmediatamente.
- C. Una vez que cada reacción se haya desarrollado durante el tiempo correspondiente, introduzca el panel en el autoSCAN-4 para la lectura.

8. Lectura del panel de sistemas WalkAway

- A. Al cabo de 4 horas de incubación, se leen en primer lugar las pruebas que no requieran la adición de reactivos (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA y BL).
- B. A continuación, el WalkAway añade los reactivos apropiados a: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ y IND. Seguidamente, se interpretan estas reacciones.

NOTA: El WalkAway lee primero pocillos que no requieren reactivos, con el fin de evitar resultados modificados debido a los gases de los reactivos que pueden quedar atrapados bajo la tapa de la bandeja. Por lo tanto, las reacciones bioquímicas no se pueden verificar manualmente.

RESULTADOS**Tabla 2**

Gráfico de interpretación bioquímica			
Well	Positivo	Negativo	Notas
IDX	Precipitado de azul a gris	Claro	
NO ₃	Rosa, rojo a magenta	Transparente a amarillo	Resultados registrados al cabo de 3-5 minutos.
NO ₂	Transparente a amarillo	Rosa, rojo a magenta	Resultados registrados al cabo de 3-5 minutos.
GLU SUC LAC	Naranja a amarillo	Rojo a rojo/naranja	Cualquier tono rojo debe registrarse como negativo.
FRU	De amarillo a amarillo/naranja	Rojo a naranja	Cualquier tono amarillo debe registrarse como positivo.
MAL	Amarillo	Rojo a amarillo/naranja	
GAL	Amarillo	Claro	Un amarillo pálido es positivo. Utilice el pocillo de IND antes de la adición de reactivo como un control negativo.
URE	Rojo a magenta	Amarillo a rosa claro	
ORN	De verde a azul	Amarillo a amarillo/verde	Cualquier tono amarillo debe registrarse como negativo.
IND	Anillo rojo	Amarillo	Cualquier tono rojo debe registrarse como positivo.

Gráfico de interpretación bioquímica

Well	Positivo	Negativo	Notas
PRO NGL ZAR	Rojo a magenta	De amarillo a naranja	Los resultados deben registrarse en un plazo de 3 a 5 minutos. Una reacción ZAR débil se indica con una apariencia turbia.
AGL	Amarillo	Claro	Cualquier tono amarillo debe registrarse como positivo. Utilice el pocillo de IND antes de la adición de reactivo como un control negativo.
STA BL	De amarillo a amarillo/naranja	Rojo a naranja	Cualquier tono amarillo debe considerarse como positivo.
LOC	Para la alineación de paneles en los sistemas autoSCAN-4 y WalkAway		

Reacciones

Indoxil fosfatasa (IDX): la fosfatasa alcalina descompone el indoxil fosfato para liberar indoxil, que se combina con oxígeno molecular para formar un compuesto azul insoluble.

Nitrato (NO_3): la capacidad de un microorganismo de reducir el nitrato a nitrito se detecta mediante la adición de ácido sulfanílico y N, N-dimetil- α -naftilamina, que produce un color rojo en presencia de nitritos.

Nitrato (NO_2): la capacidad de un microorganismo de reducir nitrato para liberar gas de nitrógeno se detecta mediante la adición de ácido sulfanílico y N, N-dimetil- α -naftilamina. En presencia de nitritos, se desarrolla un color rojo, lo que representa una prueba negativa. Si no se desarrolla ningún color, el nitrito se ha reducido y se trata de una prueba positiva.

Utilización de carbohidratos (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA): la utilización de un carbohidrato específico da lugar a la formación de ácido con la caída consecuente de pH, que se detecta mediante un indicador rojo de fenol.

β -Galactosidasa (GAL): la β -galactosidasa hidroliza el o-nitrofenil- β -D-galactopiranosido, que libera el o-nitrofenol de color amarillo.

α -Glucosidasa (AGL): la α -glucosidasa hidroliza el p-nitrofenil- α -D-glucósido, que libera el p-nitrofenol de color amarillo.

Urea (URE): la enzima ureasa descompone la urea formando amoníaco con el aumento de pH resultante, que se detecta mediante un indicador rojo de fenol.

Ornitina (ORN): la decarboxilación de ornitina da lugar a una alcalinización del medio, que se detecta mediante el indicador de pH azul de bromotímol.

Indol (IND): el metabolismo del triptófano da lugar a la formación de indol, que se detecta mediante la adición del reactivo de indol HNID. Si hay indol, se forma un anillo rojo.

Peptidasas (PRO, NGL, ZAR): la capacidad de un microorganismo para producir una enzima peptidasa específica se determina mediante la separación del aminoácido correspondiente de su unión a la β -naftilamida. A continuación, la β -naftilamida se detecta formando complejos con p-dimetilaminocinamaldehído, lo que produce un color de rojo a magenta.

β -Lactamasa (BL): la β -lactamasa degrada la penicilina G a ácido peniciloico. El cambio de pH se detecta mediante un indicador rojo de fenol.

Identificación de microorganismos

El libro de códigos de biotipos de HNID MicroScan se utiliza para la identificación de microorganismos de pruebas desconocidos. Este libro de códigos se ha generado a partir de la base de datos de información de MicroScan recabada de las pruebas en el panel HNID.

El libro de códigos de biotipos ofrece el análisis informático de 17 pruebas para identificar microorganismos desconocidos. Estas pruebas se traducen en un "número de biotipo" de 6 dígitos para el cual el libro de códigos incluye la identificación del microorganismo y su probabilidad relativa. Consulte el procedimiento para generar un número de biotipo en el libro de códigos de biotipos de HNID. Cuando solo se incluye un microorganismo para un número de biotipo, la probabilidad relativa es del 99,9 %. Si es posible la identificación de más de una especie para un número de biotipo particular, todas las posibilidades se imprimen en el orden de la probabilidad más alta hasta una probabilidad total acumulativa del 99,9 %.

En el caso de que un número de biotipo no se encuentre en el libro de códigos, sugerimos la repetición de la prueba a partir de un cultivo fresco. Si al repetir las pruebas se obtienen los mismos resultados, consulte el servicio de búsqueda de biotipos en el sitio web de Beckman Coulter o consulte con el distribuidor local.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Si se incluye más de una identificación de especies para un número de biotipo particular, puede que sean necesarias pruebas complementarias para una identificación correcta. Deben llevarse a cabo pruebas para otros criterios, como los factores X y V, además de la aerotolerancia.
2. Solo se pueden analizar las especies *Haemophilus*, *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* y *Gardnerella vaginalis*: no utilice este producto para otros microorganismos cocobacilares.
3. La interpretación de los resultados de la prueba requiere personal clínico capacitado que deberá utilizar el buen juicio, conocimientos y pruebas confirmatorias adicionales en los casos en que se requiera, antes de aceptar la identificación.

de un microorganismo. Consulte las notas a pie de página que se enumeran en el libro de códigos de biotipos de HNID o el Microbiology Information Manual (Manual de información microbiológica).

- No deben usarse los números de biotipo para la identificación fenotípica de cepas aisladas de diversas muestras del mismo paciente.
- Las directrices CLSI M7-A7, vol. 26, n.º 2, recomiendan una prueba de β -Lactamasa con base de nitrocefina para el análisis de *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
- Los grupos de biotipo para especies *Haemophilus* no se correlacionan con los serotipos, es decir, *Haemophilus influenzae* II no es definitivamente del grupo B. Es necesaria la serotipificación.
- En ocasiones, algunas cepas de *N. meningitidis* no producen ácido a partir de maltosa. Estas cepas pueden ofrecer una identificación incorrecta de *N. gonorrhoeae* si NGL también es negativa. Consulte las notas a pie de página que se enumeran en el libro de códigos de biotipos de HNID o el Microbiology Information Manual (Manual de información microbiológica).
- Los aislamientos de *H. haemolyticus* de crecimiento en chocolate agar pueden identificarse de forma incorrecta como *H. influenzae*. La hemólisis en agar de sangre de caballo puede usarse para distinguir el *H. haemolyticus* de *H. influenzae*.

VALORES ESPERADOS

Consulte los resultados esperados para cada prueba y cada especie en el gráfico de porcentaje de reacciones positivas HNID. (Consulte la Tabla 3).

Tabla 3 Gráfico de probabilidad Porcentaje de reacciones positivas HNID ¹																		
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA	
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1	
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1	
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
Especies <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1	
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99	

1. Los valores de las interpretaciones de las reacciones positivas que se muestran en esta tabla no son porcentajes reales sino representaciones basadas en datos publicados y resultados de MicroScan.

2. *Haemophilus influenzae* VI-1 es el biotipo de la clasificación de biotipos de Oberhofer. *Haemophilus influenzae* VI-2 es el biotipo VI de la clasificación de biotipos de Kilian.¹⁸

Las reacciones esperadas han sido expresadas por nueve valores:					
Valor	Significado	Valor	Significado	Valor	Significado
1	Reacción pos. muy poco común	25	Reacción negativa mayoritaria	90	Reacción neg. poco común
5	Reacción pos. poco común	50	Reacción pos. oneg.	95	Reacción neg. poco común
10	Reacción pos. poco común	75	Reacción positiva mayoritaria	99	Reacción neg. muy poco común

CONTROL DE CALIDAD

Se debe comprobar la pureza del cultivo mediante un subcultivo de la suspensión de inóculo en medios de agar adecuados. Los resultados de las pruebas no son válidos si se detecta un cultivo mezclado. La aceptabilidad de los medios de identificación puede comprobarse mediante pruebas con las siguientes cepas: (Tabla 4).

Tabla 4

Gráfico de control de calidad

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Se puede obtener un resultado positivo con *Neisseria mucosa* ATCC 49233.
2. Se puede obtener un resultado positivo con *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.
3. Se puede obtener un resultado positivo con *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

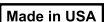
DECLARACIÓN DE GARANTÍA

El sistema está cubierto y sujeto a las cláusulas de garantía incluidas en su acuerdo de contrato para el sistema o sus reactivos. El cliente es responsable de llevar a cabo los procedimientos de mantenimiento preventivo ordinarios. Las reparaciones cuya causa se pueda atribuir a no realizar dichos procedimientos de mantenimiento en los intervalos de tiempo indicados se harán según el criterio de Beckman Coulter e irán a cargo del cliente.

Lista de símbolos

Lista de símbolos			
Símbolo	Título del símbolo	Descripción del estándar	Estándar
	No reutilizar	Indica que un dispositivo médico está destinado a un solo uso o a utilizarse en un solo paciente durante un único procedimiento.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Fecha de caducidad	Indica la fecha tras la cual no se debe utilizar el dispositivo médico.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Código de lote	Indica el código de lote del fabricante para identificar el lote.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Número de catálogo	Indica el número de catálogo del fabricante para que pueda identificarse el dispositivo médico.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.6
	Fabricante	Indica el fabricante del dispositivo médico según se define en las directivas 90/385/CEE, 93/42/CEE y 98/79/CE de la UE.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.1
	Fecha de fabricación	Indica la fecha de fabricación del dispositivo médico.	ISO 15223-1; 5.3.1

Lista de símbolos

Símbolo	Título del símbolo	Descripción del estándar	Estándar
	Representante autorizado en la Comunidad Europea	Indica el representante autorizado en la Unión Europea.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.2
	Contenido suficiente para <n> pruebas	Indica el número total de pruebas de IVD que se pueden realizar con el IVD. (Habitualmente se incluye en los kits de reactivos).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Indica que se trata de un dispositivo médico que está destinado a utilizarse como dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, cláusula 5.5.1
	Límite de temperatura	Indica los límites de temperatura a los que puede exponerse de forma segura el dispositivo médico.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Consulte las Instrucciones de uso	Indica la necesidad de que el usuario consulte las instrucciones de uso.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Marcado CE	Marca obligatoria europea de conformidad	NA
	Contenido	NA	NA
	Contenidos (envase)	Antimicrobiano (abreviatura)	NA
	Contenidos (envase)	Sustrato de identificación (abreviatura)	NA
	Hoja de datos de seguridad	Indica una hoja de datos de seguridad.	NA
	Made in USA	NA	NA
	Para uso de exportación solamente	NA	NA
	Volumen de reconstitución	NA	NA
	Frágil, manipular con precaución	Indica que se trata de un dispositivo médico que puede romperse o dañarse si no se manipula con cuidado.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Hacia arriba	Indica la correcta posición vertical	ISO 7000: 0623

ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar. Parte 1: Requisitos generales).

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

MicroScan

HNID Procedural Manual (Manual de Procedimentos HNID)

REF B1012-10B

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O sistema HNID foi concebido para a identificação e deteção rápidas da produção de β -lactamase em espécies de *Neisseria*, espécies de *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* e *Gardnerella vaginalis*. Também pode proceder-se à identificação de biótipos de *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus parainfluenzae*.

SUMÁRIO E FUNDAMENTO

Os testes convencionais e cromogénicos modificados são utilizados para a identificação de cocos e bacilos Gram-negativos nocivos.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Produz-se uma suspensão McFarland 3 do organismo a ser testado em meio líquido especial para inóculo. O painel HNID é reidratado e inoculado a partir do meio líquido e incubado durante 4 horas. Após a incubação, interpretam-se as alterações no pH e a utilização de determinados substratos ou outras reações bioquímicas para a identificação. Utiliza-se um método acidométrico rápido para a deteção da enzima β -lactamase.^{13,14,15}

AVISOS E PRECAUÇÕES

Os painéis e reagentes HNID destinam-se apenas para fins de diagnóstico *in vitro*. Não permita que o reagente peptidase ou o reagente indol HNID entrem em contacto com os olhos, a pele ou o vestuário. Respeitar as técnicas de assepsia e as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos ao longo de todo o procedimento, dando especial atenção ao facto de os painéis inoculados conterem organismos potencialmente patogénicos.

ARMAZENAMENTO

Conservar entre 2–8 °C. Após a reidratação com o meio líquido de inóculo HNID, elimine o painel de qualquer substrato parecer ter uma reação positiva. Consulte a Tabela de interpretação bioquímica relativamente às reações de cor positivas.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em techdocs.beckmancoulter.com

COLHEITA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Os espécimes são colhidos e colocados em meios de isolamento primário, de acordo com os procedimentos laboratoriais descritos no *Manual of Clinical Microbiology* (Manual de microbiologia clínica).¹⁶

MATERIAIS FORNECIDOS

Painel HNID (B1012-10B)

Manual de procedimentos

HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID)

Folha de trabalho

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Meio líquido de inóculo HNID (B1015-16)

Reagente peptidase (B1012-30B)

Tabuleiro de cobertura (B1010-56B)

Óleo mineral, 60 mL (B1010-40)

Óleo mineral, 250 mL (B1010-40A) — APENAS para instrumentos WalkAway SI (e instrumentos WalkAway atualizados com a função automática de sobreposição com óleo)

N,N-dimetil- α -naftilamina a 0,5% (B1010-45A)

Reagente indol HNID (B1015-15)

Ácido sulfanílico a 0,8% (B1010-44A)

Pipeta de 50 μ L com pontas esterilizadas

Bastonetes aplicadores em madeira esterilizados ou ansa de inoculação esterilizada

Padrão de turvação de sulfato de bário McFarland 3

Padrão de turvação de sulfato de bário McFarland 4

Aagitador vórtex

35–37 °C em incubadora sem CO₂

Organismos de controlo de qualidade:

C29877–AB

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCEDIMENTO

1. Preparação do painel

Retirar o painel da refrigeração e retirar *imediatamente* da bolsa de folha de alumínio. **Os painéis não devem ser utilizados se não houver dessecante, ou se o mesmo estiver quebrado, nem se a integridade da embalagem estiver comprometida (não selada, perfurada ou rasgada).** Deixar o painel e o meio líquido de inóculo HNID ficarem à temperatura ambiente antes de utilizar. Os painéis podem ser empilhados com um tabuleiro de cobertura limpo por cima dos mesmos.

2. Preparação dos organismos

Utilizando um bastonete aplicador esterilizado ou uma ansa de inoculação esterilizada, transferir uma quantidade suficiente de colónias morfológicamente semelhantes a partir de uma placa de isolamento primária com 18–24 horas (agar com sangue, chocolate, GV ou Thayer Martin) para o meio líquido de inóculo HNID comparável a um padrão de turvação de sulfato de bário McFarland 3. Para as espécies de *Neisseria*, é desejável um padrão de turvação de sulfato de bário McFarland 4. Agitar o meio líquido de inóculo em vórtex antes de inocular o painel. Não utilizar um padrão de turvação de sulfato de bário inferior a McFarland 3 para inocular qualquer dos painéis HNID.

3. Inoculação

Transferir 50 µL (0,05 mL) de meio líquido de inóculo para cada poço etiquetado do painel HNID. Deve utilizar-se uma pipeta de 50 µL com ponta esterilizada. Após cada inoculação do painel, o MicroScan recomenda a subcultura de 1 gota do meio líquido de inóculo em excesso para um meio de cultura adequado, como mecanismo de verificação da pureza.

NOTA: para a utilização com os sistemas autoSCAN-4 e WalkAway, o poço LOC também terá de ser reidratado.

4. Sobreposições bioquímicas com óleo

Utilizando um frasco doseador, cobrir o poço URE com 2–3 gotas de óleo mineral. Os meios de cultura do poço devem ficar completamente cobertos, mas o poço não deve ficar demasiado cheio.

NOTA: os instrumentos WalkAway SI (e os instrumentos WalkAway atualizados com a funcionalidade de sobreposição automática com óleo) adicionam automaticamente óleo ao poço URE.

5. Incubação

Incubar o painel inoculado durante 4 horas, a 35–37 °C, numa incubadora sem CO₂. Empilhar os painéis em grupos de 4 a 5, com um tabuleiro de cobertura sobre o painel superior para evitar evaporação.

6. Leitura de painel, visual ou com touchSCAN

A. Após 4 horas de incubação a 35–37 °C, devem ler-se primeiro os testes que não exijam a adição de reagentes (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA e BL).

B. Adicionar reagentes conforme indicado de seguida:

a. PRO, NGL, ZAR

Adicionar 1 gota de reagente peptidase aos poços PRO, NGL e ZAR. Aguardar 3–5 minutos pelo desenvolvimento da reação de cor.

b. NO₃, NO₂

Adicionar 1 gota de ácido sulfanílico a 0,8% e 1 gota de N,N-dimetil-alfa-naftilamina a 0,5% aos poços NO₃ e NO₂. Aguardar 3–5 minutos pelo desenvolvimento da reação de cor.

c. IND

Adicionar 1–2 gotas de reagente indol HNID ao poço IND. A cor é revelada imediatamente.

C. Interprete as reações segundo a Tabela de interpretação bioquímica e registe os resultados no formulário fornecido, ou introduza as reações positivas através do leitor touchSCAN.

Tabela 1, Substratos

Substratos	Abrev.	Substratos	Abrev.
Fosfato de indoxil	IDX	Ureia	URE
Nitrato	NO ₃	Ornitina	ORN
Nitrito	NO ₂	Indol	IND
Glucose	GLU	L-prolil-β-naftilamida	PRO
Sacarose	SUC	N-γ-L-glutamil-β-naftilamida	NGL
Maltose	MAL	N-α-benzoilo-DL-Arginina-β-naftilamida	ZAR
Frutose	FRU	p-nitrofenilo-α-D-glucósido	AGL
Lactose	LAC	Amido	STA
o-nitrofenil-β-D-galactósido	GAL	β-lactamase (penicilina)	BL

7. Leitura de painel autoSCAN-4

- A. Após 4 horas de incubação a 35–37 °C, fazer a sobreposição de GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA e BL com óleo mineral antes de adicionar reagentes.
- B. Adicionar reagentes conforme indicado de seguida:
 - a. PRO, NGL, ZAR
Adicionar 1 gota de reagente peptidase aos poços PRO, NGL e ZAR. Aguardar 3–5 minutos pelo desenvolvimento da reação de cor.
 - b. NO₃, NO₂
Adicionar 1 gota de ácido sulfanílico a 0,8% e 1 gota de N,N-dimetil-alfa-naftilamina a 0,5% aos poços NO₃ e NO₂. Aguardar 3–5 minutos pelo desenvolvimento da reação de cor.
 - c. IND
Adicionar 1–2 gotas de reagente indol HNID ao poço IND. A cor é revelada imediatamente.
- C. Depois de cada reação se ter desenvolvido durante o período temporal adequado, inserir o painel no autoSCAN-4 para leitura.

8. Leitura do painel dos Sistemas WalkAway

- A. Após 4 horas de incubação, leem-se primeiro os testes que não exijam a adição de reagentes (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA e BL).
- B. O WalkAway adiciona então os reagentes adequados aos poços seguintes: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ e IND. Estas reações são então interpretadas.

NOTA: o WalkAway efetua a leitura de poços que não necessitam de reagentes em primeiro lugar para prevenir resultados alterados devido a vapores de reagentes que possam ficar aprisionados debaixo da tampa do tabuleiro. Desta forma, não é possível fazer a verificação manual de reações bioquímicas.

RESULTADOS**Tabela 2**

Tabela de interpretação bioquímica			
Well	Positivo	Negativo	Notas
IDX	Precipitado azul a cinzento	Claro	
NO ₃	Rosa, vermelho a magenta	Transparente a amarelo	Resultados registados passados 3–5 minutos.
NO ₂	Transparente a amarelo	Rosa, vermelho a magenta	Resultados registados passados 3–5 minutos.
GLU SUC LAC	Laranja a amarelo	Vermelho a vermelho/laranja	Qualquer cor vermelha deve ser registada como negativa.
FRU	Amarelo a amarelo/laranja	Vermelho a laranja	Qualquer cor amarela deve ser registada como positiva.
MAL	Amarelo	Vermelho a amarelo/laranja	
GAL	Amarelo	Claro	Um resultado amarelo pálido é positivo. Utilizar o poço IND antes da adição de reagente como controlo negativo.
URE	Vermelho a magenta	Amarelo a rosa claro	
ORN	Verde a azul	Amarelo a amarelo/verde	Qualquer cor amarela deve ser registada como negativa.

Tabela de interpretação bioquímica

Well	Positivo	Negativo	Notas
IND	Anel vermelho	Amarelo	Qualquer cor vermelha deve ser registada como positiva.
PRO NGL ZAR	Vermelho a magenta	Amarelo a laranja	Os resultados devem ser registados passados 3–5 minutos. Uma reação ZAR fraca é indicada por uma aparência turva.
AGL	Amarelo	Claro	Qualquer cor amarela deve ser registada como positiva. Utilizar o poço IND antes da adição de reagente como controlo negativo.
STA BL	Amarelo a amarelo/laranja	Vermelho a laranja	Qualquer cor amarela deve ser considerada como positiva.
LOC	Para o alinhamento dos painéis de sistema autoSCAN-4 e WalkAway		

Reações

Indoxil fosfatase (IDX) — A fosfatase alcalina faz a cisão do fosfato de indoxil em indoxil livre, que se combina com oxigénio molecular para formar um composto azul insolúvel.

Nitrato (NO₃) — A capacidade de um organismo em reduzir o nitrato a nitrito é detetada pela adição de ácido sulfanílico e de N,N-dimetil- α -naftilamina, que produzem uma cor vermelha na presença de nitrito.

Nitrito (NO₂) — A capacidade de um organismo para reduzir o nitrito em azoto gasoso livre é detetada através da adição de ácido sulfanílico e N,N-dimetil- α -naftilamina. Na presença de nitrito, desenvolve-se uma cor vermelha, que é um teste negativo. Caso não se desenvolva nenhuma cor, o nitrito foi reduzido e o teste tem resultado positivo.

Utilização de hidrato de carbono (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) — A utilização de um hidrato de carbono específico resulta na formação de ácido, com a descida de pH consequente indicada por um indicador vermelho de fenol.

β -Galactosidase (GAL) — A β -galactosidase hidrolisa o o-nitrofenil- β -D-galactopiranósido, que liberta o o-nitrofenol de coloração amarela.

α -Glucosidase (AGL) — A α -glucosidase hidroliza o p-nitrofenilo- α -D-glucósido, que liberta o p-nitrofenilo, de cor amarela.

Ureia (URE) — A enzima urease faz a cisão da ureia, formando amónia, sendo o aumento de pH resultante detetado pelo indicador vermelho de fenol.

Ornitina (ORN) — A descarboxilação da ornitina resulta numa alcalinização dos meios, o que é detetado pelo indicador de pH azul de bromotimol.

Indol (IND) — O metabolismo do triptofano resulta na formação de indol, que é detetado através da adição do reagente indol HNID. Na presença de indol, forma-se um anel vermelho.

Peptidases (PRO, NGL, ZAR) — A capacidade de um organismo para produzir uma enzima peptidase específica é determinada pela cisão do aminoácido adequado, a partir da sua ligação à β -naftilamida. A β -naftilamida livre é então detetada através de complexação com o p-dimetilaminocinamaldeído, produzindo uma cor vermelha a magenta.

β -Lactamase (BL) — A penicilina G é degradada pela β -lactamase para ácido penicilóico. A mudança no pH é detetada por um indicador vermelho de fenol.

Identificação do organismo

O HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID) da MicroScan é utilizado para a identificação de organismos de teste desconhecidos. Este Livro de Códigos foi criado a partir da base de dados da MicroScan de informações compiladas a partir de testes do painel HNID.

O Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos) providencia a análise computadorizada de 17 testes para identificar organismos desconhecidos. Estes testes são traduzidos num «número de biótipo» com 6 algarismos, para o qual o Livro de códigos enumera a identificação do organismo e a respetiva probabilidade relativa. Consulte o HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID) para ver o procedimento para gerar um número de biótipo. Quando há apenas um organismo listado para um número de biótipo, a probabilidade relativa é de 99,9%. Se for possível a identificação de mais de uma espécie para um determinado número de biótipo em particular, todas as possibilidades são imprimidas por ordem decrescente de probabilidade até uma probabilidade cumulativa total de 99,9%.

Caso ocorra um número de biótipo que não conste do Livro de códigos, sugerimos a repetição do teste a partir de uma cultura fresca. Se, após a repetição dos testes, obtiver os mesmos resultados, consulte o Biotype Lookup Service (Serviço de procura de biótipos) no site da Beckman Coulter ou consulte o seu distribuidor local.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. Se a um determinado número de biótipo corresponder a mais do que uma identificação de espécie, poderão ser necessários testes suplementares para determinar uma identificação correta. Também devem realizar-se testes para outros critérios, como por exemplo fatores X e V e aerotolerância.
2. Apenas podem ser testadas espécies de *Haemophilus*, espécies de *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* e *Gardnerella vaginalis* — não utilizar este produto para outros organismos cocobacilares.

3. A interpretação dos resultados dos testes exige a intervenção de pessoal clínico com formação, com capacidade de avaliação e conhecimentos para executar testes de confirmação adicionais, quando tal for necessário, antes de aceitar a identificação de um organismo. Consulte as notas de rodapé enumeradas no HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID) ou no Microbiology Information Manual (Manual de informações de microbiologia).
4. Os números de biótipos não devem ser utilizados para identificação fenotípica de estirpes isoladas a partir de vários espécimes do mesmo paciente.
5. As orientações CLSI M7-A7, Vol. 26, N.º 2, recomendam o teste de β -lactamase à base de nitrocefina para testar a presença de *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
6. Os grupos de biótipos para *Haemophilus* sp. não se correlacionam com serótipos, ou seja, definitivamente o *Haemophilus influenzae* II não pertence ao grupo B. É necessária a serotipagem.
7. Ocasionalmente, algumas estirpes de *N. meningitidis* não produzem ácido a partir da maltose. Estas estirpes podem originar uma identificação incorreta de *N. gonorrhoeae* se o NGL também for negativo. Consulte as notas de rodapé enumeradas no HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID) ou no Microbiology Information Manual (Manual de informações de microbiologia).
8. Os isolados de *H. haemolyticus* cultivados em agar chocolate podem ser incorretamente identificados como *H. influenzae*. A hemólise no ágar com sangue de cavalo pode ser utilizada para distinguir *H. haemolyticus* de *H. influenzae*.

VALORES ESPERADOS

Consultar a tabela de percentagem de reações positivas de HNID para ver os resultados esperados para cada teste e cada espécie. (Consultar a Tabela 3.)

Tabela 3 Tabela de probabilidades Percentagem de reações positivas de HNID¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
Espécie de <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Os valores de interpretação de reações positivas apresentados nesta tabela não são percentagens reais, mas sim uma representação com base nos dados publicados e nos resultados do MicroScan.
2. *Haemophilus influenzae* VI-1 é o biótipo da classificação de biótipos de Oberhofer. *Haemophilus influenzae* VI-2 é o biótipo VI da classificação de biótipos de Kilian.¹⁸

As reações esperadas foram expressas através de nove valores:					
Valor	Significado	Valor	Significado	Valor	Significado
1	Reação positiva muito rara	25	Maioria de reações negativas	90	Reação negativa pouco frequente
5	Reação positiva rara	50	Reação positiva ou reação negativa	95	Reação negativa rara
10	Reação positiva pouco frequente	75	Maioria de reações positivas	99	Reação negativa muito rara

CONTROLO DE QUALIDADE

A pureza da cultura deve ser verificada através de subculturas a partir da suspensão de inóculo em meio de ágar adequado. Os resultados do teste serão inválidos caso seja detetada uma cultura mista. A aceitabilidade dos meios de identificação pode ser verificada testando com as seguintes estirpes: (Tabela 4.)

Tabela 4

Gráfico de controlo de qualidade

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. É possível obter um resultado positivo com *Neisseria mucosa* ATCC 49233.

2. É possível obter um resultado positivo com *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.

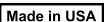
3. É possível obter um resultado positivo com *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

DECLARAÇÃO DE GARANTIA

O sistema é abrangido por e está sujeito às disposições da garantia incluídas no acordo contratual relativo ao sistema ou respetivos reagentes. O cliente é responsável pelos procedimentos de manutenção preventiva de rotina. As reparações que surjam devido à não realização destes procedimentos de manutenção nos intervalos de tempo indicados são efetuadas ao critério da Beckman Coulter, sendo as despesas suportadas pelo cliente.

Legenda dos símbolos

Legenda dos símbolos			
Símbolo	Designação do símbolo	Descrição do padrão	Padrão
	Não reutilizar	Indica um dispositivo médico que se destina a ser utilizado uma vez ou num único paciente durante um procedimento único.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Data de validade	Indica a data após a qual o dispositivo médico não deve ser usado.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Código de lote	Indica o código de lote do fabricante pelo qual o lote pode ser identificado.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Número do catálogo	Indica o número de catálogo do fabricante para que o dispositivo médico possa ser identificado.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.6
	Fabricante	Indica o fabricante do dispositivo médico, conforme definido nas Diretivas da UE 90/385/CEE, 93/42/CEE e 98/79/CE.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.1
	Data de fabrico	Indica a data em que o dispositivo médico foi fabricado.	ISO 15223-1; 5.3.1

Legenda dos símbolos			
Símbolo	Designação do símbolo	Descrição do padrão	Padrão
	Representante autorizado na Comunidade Europeia	Indica o representante autorizado na Comunidade Europeia.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.2
	Contém o suficiente para <n> testes	Indica o número total de testes de IVD que podem ser realizados com o IVD. (Normalmente incluído nos kits de reagentes).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Indica um dispositivo médico destinado a ser utilizado como um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, cláusula 5.5.1
	Limites de temperatura	Indica os limites de temperatura aos quais o dispositivo médico pode ser exposto com segurança.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Consulte as Instructions for Use (Instruções de utilização)	Indica a necessidade de o utilizador consultar as instruções de utilização.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Marcação CE	Marca regulatória de conformidade europeia	n/d
	Índice	n/d	n/d
	Conteúdo (embalagem)	Agente antimicrobiano (abreviatura)	n/d
	Conteúdo (embalagem)	Substrato de identificação (abreviatura)	n/d
	Ficha de dados de segurança	Indica uma ficha de dados de segurança.	n/d
	Made in USA	n/d	n/d
	Apenas para fins de exportação	n/d	n/d
	Volume de reconstituição	n/d	n/d
	Frágil, manusear com cuidado	Indica um dispositivo médico que pode partir-se ou danificar-se se não for manuseado com cuidado.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Este lado para cima	Indica a posição vertical correta	ISO 7000: 0623

ISO 15223-1: Medical Devices — Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Dispositivos médicos — Símbolos a utilizar em etiquetas de dispositivos médicos, rotulagem e informações a serem fornecidas. Parte 1: Requisitos gerais).

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços supramencionados da Beckman Coulter são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e outros países.

MicroScan

HNID-prosedyrehandbok

REF B1012-10B

ANVENDELSESOMRÅDE

HNID-systemet er designet for hurtig identifisering og deteksjon av β -laktamase-produksjon i *Neisseria*-arter, *Haemophilus*-arter, *Branhamella catarrhalis* og *Gardnerella vaginalis*. Biotyping av *Haemophilus influenzae* og *Haemophilus parainfluenzae* kan også utføres.

SAMMENDRAG OG PRINSIPP

Modifiserte konvensjonelle og kromogene tester brukes for å identifisere kresne gramnegative kokker og basiller.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} En 3 McFarland-suspensjon av organismen som skal testes, utføres i en spesiell inokulumbuljong. HNID-panelet rehydreres og inokuleres fra buljongen og inkuberes i 4 timer. Etter inkubering tolkes endringer i pH og anvendelse av visse substrater eller andre biokjemiske reaksjoner for identifikasjon. En hurtig acidometrisk metode benyttes for deteksjon av enzymet β -laktamase.^{13,14,15}

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

HNID-paneler og -reagenser er kun for *in vitro*-diagnostisk bruk. Ikke la peptidasereagens eller HNID-indolreagens komme i kontakt med øyne, hud eller klær. Overhold aseptiske teknikker og etablerte forholdsregler mot mikrobiologiske farer gjennom prosedyren, med spesiell oppmerksomhet på at de inokulerte panelene inneholder potensielt patogene organismer.

OPPBEVARING

Oppbevares ved 2–8 °C. Etter rehydrering med HNID-inokulumbuljong kaster du panelet hvis noe substrat viser seg å ha en positiv reaksjon. Se tabellen for biokjemisk tolkning for positive fargereaksjoner.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig



Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på techdocs.beckmancoulter.com

PRØVEINNSAMLING OG KLARGJØRING

Prøver samles og plasseres på primære isolasjonsmedier i samsvar med laboratorieprosedyrer som beskrevet i *Manual of Clinical Microbiology* (Håndbok for klinisk mikrobiologi).¹⁶

MEDFØLGENDE MATERIALER

HNID-panel (B1012-10B)

Prosedyrehandbok

HNID-biotypekodebok

Arbeidsark

PÅKREVDE MATERIALER SOM IKKE MEDFØLGER

HNID-inokulumbuljong (B1015-16)

Peptidasereagens (B1012-30B)

Dekkebrett (B1010-56B)

Mineralolje, 60 mL (B1010-40)

Mineralolje, 250 mL (B1010-40A) – KUN for bruk med WalkAway SI-instrumenter (og WalkAway-instrumenter oppgardert med den automatiske oljeoverleggsfunksjonen)

0,5 % N,N-dimetyl- α -naftylamin (B1010-45A)

HNID-indolreagens (B1015-15)

0,8 % sulfanilsyre (B1010-44A)

50 μ L-pipette med sterile spisser

Sterile treapplikatorpinner eller steril inokuleringsløkke

3 McFarland bariumsulfat-turbiditetsstandard

4 McFarland bariumsulfat-turbiditetsstandard

Vorteksblender

35–37 °C ikke-CO₂-inkubator

Kvalitetskontrollorganismer:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROSEDYRE

1. Klargjøring av panel

Ta ut panelet fra kjøling og ta *straks* ut av folieposen. **Paneler skal ikke brukes hvis tørkemiddelet ikke er til stede eller er ødelagt eller hvis pakken er uforseglet, punktert eller revet i stykker.** La panelet og HNID-inokulumbuljongen nå romtemperatur før bruk. Panelene kan stables med et rent dekselbrett på toppen.

2. Klargjøring av organismen

Bruk en steril applikatorpinne eller en steril inokuleringslør til å overføre tilstrekkelig med morfologisk like kolonier fra en 18–24 timers primærisoleringsplate (blod, sjokolade, GV eller Thayer Martin Agar) til HNID-inokulumbuljongen, sammenlignbar med en 3 McFarland bariumsulfat-turbiditetsstandard. For *Neisseria*-arter er det ønskelig med en 4 McFarland bariumsulfat-turbiditetsstandard. Vorteks inokulumbuljongen før panelet inokuleres. Ikke bruk mindre enn en 3 McFarland bariumsulfat-turbiditetsstandard til å inokulere noen HNID-paneler.

3. Inokulasjon

Overfør 50 µL (0,05 mL) inokulumbuljong til hver merket brønn i HNID-panelet. En 50 µL-pipette med steril spiss bør benyttes. Etter hver panelinokulering anbefaler MicroScan å subdyrke 1 dråpe overflødig inokulumbuljong på et egnet medium som renhetssjekk.

MERK: Til bruk med autoSCAN-4- og WalkAway-systemer må LOC-brønnen også være rehydrert.

4. Biokjemiske oljeoverlegg

Bruk en dråpetellerflaske til å legge 2–3 dråper mineralolje over URE-brønnen. Mediet i brønnen skal tildekkes helt, men brønnen skal ikke overfylles.

MERK: WalkAway SI-instrumenter (og WalkAway-instrumenter oppgradert med den automatiske oljeoverleggsfunksjonen) tilsetter olje automatisk til URE-brønnen.

5. Inkubasjon

Inkuber det inokulerte panelet i 4 timer ved 35–37 °C i en inkubator uten CO₂. Stable paneler i grupper på 4 til 5 med dekkebrett over topppanelet for å unngå fordampning.

6. Visuell eller touchSCAN-panelavlesning

A. Etter 4 timers inkubering ved 35–37 °C bør testene som ikke trenger tilsetning av reagenser (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA og BL) avleses først.

B. Tilsett reagenser som følger:

a. PRO, NGL, ZAR

Tilsett 1 dråpe peptidasereagens i PRO-, NGL- og ZAR-brønnene. Regn med 3–5 minutter for at fargereaksjonen skal utvikles.

b. NO₃, NO₂

Tilsett 1 dråpe 0,8 % sulfanilsyre og 1 dråpe 0,5 % N,N-dimetyl-α-naftylamin i NO₃- og NO₂-brønnene. Regn med 3–5 minutter for at fargereaksjonen skal utvikles.

c. IND

Tilsett 1–2 dråper HNID-indolreagens i IND-brønnen. Farge utvikles umiddelbart.

C. Tolk reaksjonene i samsvar med tabellen for biokjemisk tolkning og noter resultatene på regnearket som følger med eller legg inn de positive reaksjonene via touchSCAN-leseren.

Tabell 1, Substrater

Substrater	Fork.	Substrater	Fork.
Indoksylofosfat	IDX	Urea	URE
Nitrat	NO ₃	Ornitin	ORN
Nitritt	NO ₂	Indol	IND

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Substrater	Fork.	Substrater	Fork.
Glukose	GLU	L-prolyl- β -naftylamid	PRO
Sukrose	SUC	N- γ -L-glutamyl- β -naftylamid	NGL
Maltose	MAL	N- α -benzoyl-DL-Arginin- β -naftylamid	ZAR
Fruktose	FRU	p-nitrofenyl- α -D-glukosid	AGL
Laktose	LAC	Stivelse	STA
o-nitrofenyl- β -D-galaktoside	GAL	β -laktamase (penicillin)	BL

7. autoSCAN-4-panelavlesning

- Etter 4 timers inkubering ved 35–37 °C legges mineralolje over GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA og BL før reagenser tilsettes.
- Tilsett reagenser som følger:
 - PRO, NGL, ZAR
Tilsett 1 dråpe peptidasereagens i PRO-, NGL- og ZAR-brønnene. Regn med 3–5 minutter for at fargereaksjonen skal utvikles.
 - NO₃, NO₂
Tilsett 1 dråpe 0,8 % sulfanilsyre og 1 dråpe 0,5 % N,N-dimetyl- α -naftylamin i NO₃- og NO₂-brønnene. Regn med 3–5 minutter for at fargereaksjonen skal utvikles.
 - IND
Tilsett 1–2 dråper HNID-indolreagens i IND-brønnen. Farge utvikles umiddelbart.
- Etter at hver reaksjon er utviklet for riktig tidsrom, settes panelet inn i autoSCAN-4 for avlesing.

8. WalkAway-systempanelavlesing

- Etter 4 timers inkubering bør testene som ikke trenger tilsetning av reagenser (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA og BL), avleses først.
- Deretter tilsetter WalkAway egnede reagenser til følgende: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ og IND. Deretter tolkes disse reaksjonene.

MERK: WalkAway leser av brønner som ikke først trenger reagenser for å forhindre endrede resultater på grunn av reagensdamp som kan være fanget under brettlokket. Derfor kan ikke biokjemikalier verifiseres manuelt.

RESULTATER

Tabell 2

Tabell for biokjemisk tolkning			
Well	Positiv	Negativ	Merknader
IDX	Blått til grått presipitat	Klar	
NO ₃	Rosa, rød til magenta	Klar til gul	Resultater registrert etter 3–5 minutter.
NO ₂	Klar til gul	Rosa, rød til magenta	Resultater registrert etter 3–5 minutter.
GLU	Oransje til gul	Rød til rød/oransje	Enhver rødfarge bør registreres som negativ.
SUC			
LAC			
FRU	Gul til gul/oransje	Rød til oransje	Enhver gulfarge bør registreres som positiv.
MAL	Gul	Rød til gul/oransje	
GAL	Gul	Klar	En svak gul er positiv. Bruk IND-brønnen før tilsetning av reagens som negativ kontroll.
URE	Rød til magenta	Gul til lys rosa	
ORN	Grønn til blå	Gul til gul/grønn	Enhver gulfarge bør registreres som negativ.
IND	Rød ring	Gul	Enhver rødfarge bør registreres som positiv.
PRO	Rød til magenta	Gult til oransje	Resultater bør registreres innen 3–5 minutter.
NGL			En svak ZAR-reaksjon indikeres av et grumsete utseende.
ZAR			
AGL	Gul	Klar	Enhver gulfarge bør registreres som positiv. Bruk IND-brønnen før tilsetning av reagens som negativ kontroll.
STA	Gul til gul/oransje	Rød til oransje	Enhver gulfarge bør anses som positiv.
BL			
LOC	For panelinnretting med autoSCAN-4- og WalkAway-systemer		

Reaksjoner

Indoksylofosfatase (IDX) – Alkalisk fosfatase spalter indoksylofosfat til fritt indoksylo, som kombineres med molekylær oksygen for å danne en uløselig blå forbindelse.

Nitrat (NO₃) – En organismes evne til å redusere nitrat til nitritt påvises ved tilsetning av sulfanilsyre, deretter N,N-dimetyl-alfa-naftylamin, som produserer en rødfarge i nærvær av nitritt.

Nitritt (NO₂) – En organismes evne til å redusere nitritt til fri nitrogengass detekteres av tilsetningen av sulfanilsyre og N,N-dimetyl- α -naftylamin. En rød farge utvikles i nærvær av nitritt, som er en negativ test. Hvis ingen farge utvikles, er nitritt blitt redusert og testen er positiv.

Karbohydrat-anvendelse (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) – Anvendelsen av et bestemt karbohydrat resulterer i syredannelse med påfølgende pH-reduksjon, indikert av en fenolrødt-indikator.

β -galaktosidase (GAL) – β -galaktosidase hydrolyserer o-nitrofenyl- β -D-galaktopyranosid, som frigjør det gulfargede o-nitrofenolet.

α -glukosidase (AGL) – α -glukosidase hydrolyserer p-nitrofenyl- α -D-glukosid som frigjør det gulfargede p-nitrofenolet.

Urea (URE) – Enzymet urease spalter ureadannende ammoniakk med resulterende pH-økning detektert av en fenolrødt-indikator.

Ornitin (ORN) – Dekarboksylering av ornitin resulterer i en alkalinisering av media som er detektert av pH-indikatoren bromtymolblått.

Indol (IND) – Metabolismen av tryptofan resulterer i dannelsen av indol, som detekteres ved tilsetning av HNID-indolreagens. En rød ring utvikles hvis indol forekommer.

Peptidaser (PRO, NGL, ZAR) – En organismes evne til å produsere et spesifikt peptidaseenzym fastsettes ved å spalte den egnede aminosyren fra koblingen til β -naftylamid. Det frie β -naftylamidet blir deretter detektert ved å danne kompleks med p-dimetylamino-cinnamaldehyd, som produserer en rød til magenta farge.

β -laktamase (BL) – Penicillin G degraderes av β -laktamase til penicilloinsyre. pH-skiftet detekteres av en fenolrødt-indikator.

Identifisering av organisme

MicroScan HNID-biotypekodeboken brukes til å identifisere ukjente testorganismer. Denne kodeboken er generert fra MicroScans database med informasjon kompilert fra tester med HNID-panelet.

Biotypekodeboken gir 17 tester for dataanalyse for å identifisere ukjente organismer. Disse testene oversettes til et 6-sifret «biotypenummer», som kodeboken oppgir organismeidentifisering for og dens relative sannsynlighet. Se HNID-biotypekodeboken for prosedyren for å generere et biotypenummer. Den relative sannsynligheten er 99,9 % når bare én organisme er oppgitt for et biotypenummer. Hvis mer enn én art kan identifiseres for et bestemt biotypenummer, skrives alle muligheter ut i rekkefølgen av størst sannsynlighet, opptil en kumulativ total sannsynlighet på 99,9 %.

Hvis det forekommer et biotypenummer som ikke står i kodeboken, anbefaler vi at testen gjentas med en ny kultur. Hvis en ny test gir de samme resultatene, se Biotypesøketjeneste på Beckman Coulters nettside eller ta kontakt med din lokale distributør.

PROSEDYREBEGRENSNINGER

1. Hvis mer enn én artsidentifisering er oppgitt for et bestemt biotypenummer, kan flere tester være nødvendige for riktig identifikasjon. Testing for andre kriterier, f.eks. X- og V-faktorer og aerotoleranse, bør også utføres.
2. Bare *Haemophilus*-arter, *Neisseria*-arter, *Branhamella catarrhalis* og *Gardnerella vaginalis* kan testes – ikke bruk dette produktet for andre coccobacillære organismer.
3. Tolkningen av testresultater krever faglært klinisk personale som bør bruke sin dømmekraft og kompetanse, samt ytterligere bekreftende tester når det er nødvendig, før de aksepterer identifiseringen av en organisme. Se fotnoter som er oppgitt i HNID-biotypekodeboken eller informasjonshåndboken om mikrobiologi.
4. Biotypenumre bør ikke brukes til identifisering av fenotype for stammer isolert fra forskjellige prøver for samme pasient.
5. CLSI-retningslinjer M7-A7, Vol. 26, nr. 2, anbefaler nitrocefins-basert β -Laktamase-test for testing av *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
6. Biotypegrupper for *Haemophilus* sp. korrelerer ikke med serotyper, dvs., *Haemophilus influenzae* II er ikke definitivt gruppe B. Serotyping er nødvendig.
7. Av og til er det enkelte stammer av *N. meningitidis* som ikke produserer syre av maltose. Disse stammene kan gi feil identifikasjon av *N. gonorrhoeae* hvis NGL også er negativ. Se fotnoter som er oppgitt i HNID-biotypekodeboken eller informasjonshåndboken om mikrobiologi.
8. *H. haemolyticus*-isolater dyrket på sjokoladeagar kan bli feilaktig identifisert som *H. influenzae*. Hemolyse på hestebloodagar kan brukes til å skille *H. haemolyticus* fra *H. influenzae*.

FORVENTEDE VERDIER

Se HNID-tabellen for prosent positiv reaksjon for forventede resultater for hver test og hver art. (Se tabell 3.)

Tabell 3 Sannsynlighetstabell HNID prosent positive reaksjoner ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae I</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae II</i>	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae III</i>	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae IV</i>	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae V</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-1²</i>	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-2²</i>	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae I</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae II</i>	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae III</i>	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae IV</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa (NIT +)</i>	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Neisseria-arter</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Positive reaksjonstolkingsverdier som vises i denne tabellen, er ikke faktiske prosenter, men representasjon basert på publiserte data og MicroScan-resultater.

2. *Haemophilus influenzae VI-1* er biotypen for Oberhofer biotypeklassifisering. *Haemophilus influenzae VI-2* er biotype VI for Kilian biotypeklassifisering.¹⁸

Forventede reaksjoner er uttrykt av ni verdier:					
Verdi	Betydning	Verdi	Betydning	Verdi	Betydning
1	Pos. Reaksjon svært sjelden	25	De fleste reaksjonene negative	90	Neg. Reaksjon uvanlig
5	Pos. Reaksjon sjelden	50	Pos. eller Neg. Reaksjon	95	Neg. Reaksjon sjelden
10	Pos. Reaksjon uvanlig	75	De fleste reaksjonene positive	99	Neg. Reaksjon svært sjelden

KVALITETSKONTROLL

Kulturrenhet skal sjekkes ved å subdyrke fra inokulumsuspensjonen på egnet agarmedium. Testresultater er ugyldige hvis en blandet kultur detekteres. Identifikasjonsmediets akseptabilitet kan sjekkes ved testing med følgende stammer: (tabell 4.)

Tabell 4

Kvalitetskontrolltabell

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Et positivt resultat kan oppnås med *Neisseria mucosa* ATCC 49233.

2. Et positivt resultat kan oppnås med *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.

3. Et positivt resultat kan oppnås med *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

GARANTI

Systemet er dekket av og underlagt bestemmelsene i garantien som er omfattet i kontraktavtalen for systemet eller dets reagenser. Kunden er ansvarlig for å utføre rutinemessig forebyggende vedlikeholdsarbeid. Reparasjoner som oppstår ved

at disse vedlikeholdsprosedyrene unnlates utført ved de indikerte tidsintervallene er foretatt etter Beckman Coulters skjønn, og belastes kunden.

Symbolnøkkel

Symbolnøkkel			
Symbol	Symboltittel	Beskrivelse av standard	Standard
	Ikke til gjenbruk	Angir medisinsk utstyr som er beregnet for engangsbruk eller for bruk på én pasient under én prosedyre.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Utløpsdato	Angir den siste datoen det medisinske utstyret kan brukes.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Batchkode	Angir produsentens batchkode, slik at en batch eller en lot kan identifiseres.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Katalognummer	Angir produsentens katalognummer, slik at det medisinske utstyret kan identifiseres.	ISO 15223-1, del 5.1.6
	Produsent	Angir produsenten av det medisinske utstyret som definert i EU-direktivene 90/385/EØF, 93/42/EØF og 98/79/EF.	ISO 15223-1, del 5.1.1
	Produksjonsdato	Angir datoen da det medisinske utstyret ble produsert.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Autorisert representant i EU	Angir autorisert representant i EU.	ISO 15223-1, del 5.1.2
	Inneholder nok til <n> analyser	Angir det totale antallet IVD-tester som kan utføres med IVD. (Normalt inkludert på reagenssettene.)	ISO 15223-1; 5.5.5
	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr	Angir medisinsk utstyr som er beregnet for bruk som in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr.	ISO 15223-1, del 5.5.1
	Temperaturbegrensning	Angir temperaturgrensene det medisinske utstyret trygt kan utsettes for.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Se bruksanvisning	Angir at brukeren må sjekke bruksanvisningen.	ISO 15223-1; 5.4.3
	CE-merke	Europeisk merke for samsvar	Ikke relevant
	Innhold	Ikke relevant	Ikke relevant
	Innhold (pakke)	Antimikrobielt middel (forkortelse)	Ikke relevant
	Innhold (pakke)	Identifiseringssubstrat (forkortelse)	Ikke relevant
	Sikkerhetsdatablad	Angir et sikkerhetsdatablad.	Ikke relevant
	Made in USA	Ikke relevant	Ikke relevant

Symbolnøkkel

Symbol	Symboltittel	Beskrivelse av standard	Standard
	Kun til eksportbruk	Ikke relevant	Ikke relevant
	Rekonstitueringsvolum	Ikke relevant	Ikke relevant
	Ømtålig, behandles med varsomhet	Angir medisinsk utstyr som kan bli ødelagt eller skadet hvis det ikke håndteres forsiktig.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Denne siden opp	Angir riktig stående stilling	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical devices - Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied. Part 1: General Requirements. (ISO 15223-1: Medisinsk utstyr – Symboler til bruk på etiketter, som merking eller til informasjon for medisinsk utstyr. Del 1: Generelle krav.)			

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og Beckman Coulters vare- og servicemerker som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

MicroScan

HNID Procedural Manual (Εγχειρίδιο διαδικασιών HNID)

REF B1012-10B

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το σύστημα HNID είναι σχεδιασμένο για ταχεία ταυτοποίηση και ανίχνευση της παραγωγής β-λακταμάσης σε είδος *Neisseria*, είδος *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* και *Gardnerella vaginalis*. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό βιότυπου του *Haemophilus influenzae* και του *Haemophilus parainfluenzae*.

ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΑΡΧΗ

Για την ταυτοποίηση απαιτητικών αρνητικών κατά Gram κόκκων και βακίλλων χρησιμοποιούνται τροποποιημένες συμβατικές και χρωμογονικές εξετάσεις.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Παρασκευάζεται εναιώρημα του οργανισμού προς εξέταση, θολερότητας 3 της κλίμακας McFarland, σε ειδικό ζωμό ενοφθαλμίσματος. Η πλάκα HNID επανενυδατώνεται και ενοφθαλμίζεται από τον ζωμό και επωάζεται για 4 ώρες. Μετά από την επώαση, οι μεταβολές στο pH και η χρήση ορισμένων υποστρωμάτων ή άλλες βιοχημικές αντιδράσεις ερμηνεύονται με σκοπό την ταυτοποίηση. Για την ανίχνευση του ενζύμου β-λακταμάσης χρησιμοποιείται ταχεία μέθοδος οξειδομετρίας.^{13,14,15}

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Οι πλάκες και τα αντιδραστήρια HNID προορίζονται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση. Μην αφήνετε το αντιδραστήριο πεπτιδάσης ή το αντιδραστήριο ινδόλης HNID να έρθει σε επαφή με τα μάτια, το δέρμα ή τα ρούχα. Πρέπει να εφαρμόζονται άσηπτες τεχνικές και οι καθιερωμένες προφυλάξεις έναντι των μικροβιολογικών κινδύνων καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας, λαμβάνοντας ιδιαίτερα υπόψη ότι οι ενοφθαλμισμένες πλάκες περιέχουν δυνητικώς παθογόνους οργανισμούς.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Φυλάσσετε μεταξύ 2–8 °C. Μετά από επανενυδάτωση με ζωμό ενοφθαλμίσματος HNID, απορρίψτε την πλάκα αν οποιοδήποτε υπόστρωμα φαίνεται να παρουσιάζει θετική αντίδραση. Για τις θετικές χρωματικές αντιδράσεις, ανατρέξτε στον Πίνακα βιοχημικής ερμηνείας.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΠΕΣ

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS

Το Δελτίο δεδομένων ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση
techdocs.beckmancoulter.com

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Τα δείγματα συλλέγονται και τοποθετούνται σε μέσα αρχικής απομόνωσης, σύμφωνα με διαδικασίες που περιγράφονται στο *Manual of Clinical Microbiology* (Εγχειρίδιο κλινικής μικροβιολογίας).¹⁶

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Πλάκα HNID (B1012-10B)

Εγχειρίδιο διαδικασιών

HNID Biotype Codebook (Βιβλίο κωδικοποίησης βιότυπων HNID)

Φύλλο εργασίας

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Ζωμός ενοφθαλμίσματος HNID (B1015-16)

Αντιδραστήριο πεπτιδάσης (B1012-30B)

Καλυπτρίδα (B1010-56B)

Παραφινέλαιο, 60 mL (B1010-40)

Παραφινέλαιο, 250 mL (B1010-40A) - ΜΟΝΟ για χρήση με όργανα WalkAway SI (και όργανα WalkAway που έχουν αναβαθμιστεί και διαθέτουν τη δυνατότητα αυτοματοποιημένης επίστρωσης ελαίου)

N,N-διμεθυλ-α-ναφθυλαμίνη 0,5% (B1010-45A)

Αντιδραστήριο ινδόλης HNID (B1015-15)

Σουλφανιλικό οξύ 0,8% (B1010-44A)

Πιπέτα των 50 µL με αποστειρωμένα ρύγχη

Αποστειρωμένοι ξύλινοι στυλεοί ή αποστειρωμένοι κρικοφόροι στυλεοί ενοφθαλμισμού

Πρότυπο θολερότητας θειικού βαρίου McFarland 3

Πρότυπο θολερότητας θειικού βαρίου McFarland 4

Αναμίκτης περιδίνησης

Θερμοκρασία 35–37 °C, μονάδα επώασης χωρίς CO₂

Μικροοργανισμοί ποιοτικού ελέγχου:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Παρασκευή των πλακών

Αφαιρέστε την πλάκα από το ψυγείο και αφαιρέστε την αμέσως από τη θήκη αλουμινίου. **Οι πλάκες δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται εάν ο αποξηραντικός παράγοντας απουσιάζει ή έχει καταστραφεί ή εάν η ακεραιότητα της συσκευασίας έχει υποβαθμιστεί (παραβίαση της σφράγισης, τρυπημένη ή σχισμένη συσκευασία).** Πριν από τη χρήση, περιμένετε έως ότου η πλάκα και ο ζωμός ενοφθαλμίσματος HNID περιέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Οι πλάκες μπορούν να στοιβαχτούν εάν τοποθετηθεί επάνω τους μια καθαρή καλυπτρίδα.

2. Προετοιμασία οργανισμού

Χρησιμοποιώντας αποστειρωμένο στυλεό ή αποστειρωμένο κρικοφόρο στυλεό ενοφθαλμισμού, μεταφέρετε επαρκή αριθμό μορφολογικά όμοιων αποικιών από ένα τρυβλίο αρχικής απομόνωσης 18–24 ωρών (άγαρ με αίμα, σκοκολατούχο, GV ή Thayer Martin) στον ζωμό ενοφθαλμίσματος HNID θολερότητας συγκρίσιμης με αυτήν ενός προτύπου θολερότητας θειικού βαρίου McFarland 3. Για το είδος *Neisseria*, είναι επιθυμητή θολερότητα αντιστοιχία του προτύπου θολερότητας θειικού βαρίου McFarland 4. Περιδινήστε τον ζωμό ενοφθαλμίσματος πριν από τον ενοφθαλμισμό της πλάκας. Μην χρησιμοποιείτε διάλυμα θολερότητας μικρότερης από το πρότυπο θειικού βαρίου McFarland 3 για τον ενοφθαλμισμό των πλακών HNID.

3. Ενοφθαλμισμός

Μεταφέρετε 50 μL (0,05 mL) ζωμού ενοφθαλμίσματος σε κάθε επισημασμένο βοθρίο της πλάκας HNID. Θα πρέπει να χρησιμοποιήσετε αυτόματη πιπέτα των 50 μL με αποστειρωμένο ρύγχος. Μετά από τον ενοφθαλμισμό κάθε πλάκας, η MicroScan συνιστά την υποκαλλιέργεια 1 σταγόνας από την περίσσεια του ζωμού ενοφθαλμίσματος σε κατάλληλο θρεπτικό υλικό ως έλεγχο καθαρότητας.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για χρήση με τα συστήματα autoSCAN-4 και WalkAway, το βοθρίο LOC πρέπει επίσης να επανενυδατωθεί.

4. Βιοχημικές επιστρώσεις ελαίου

Χρησιμοποιώντας μια φιάλη σταγονόμετρου, επιστρώστε το βοθρίο URE με 2–3 σταγόνες παραφινέλαιο. Το θρεπτικό μέσο που βρίσκεται στο βοθρίο θα πρέπει να καλύπτεται εντελώς, αλλά το βοθρίο δεν θα πρέπει να γεμίζει υπερβολικά.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα όργανα WalkAway SI (και τα όργανα WalkAway που έχουν αναβαθμιστεί με τη δυνατότητα αυτοματοποιημένης επίστρωσης ελαίου) προσθέτουν αυτόματα έλαιο στο βοθρίο URE.

5. Επώαση

Επώαστε την ενοφθαλμισμένη πλάκα επί 4 ώρες σε θερμοκρασία 35–37 °C, σε μονάδα επώασης χωρίς CO₂. Στοιβάξτε τις πλάκες σε ομάδες των 4 έως 5 πλακών, τοποθετώντας καλυπτρίδα στην επάνω πλάκα για την πρόληψη της εξάτμισης.

6. Οπτική ανάγνωση πλάκας ή ανάγνωση πλάκας μέσω touchSCAN

A. Μετά από 4 ώρες επώασης σε θερμοκρασία 35–37 °C, θα πρέπει να γίνεται πρώτα η ανάγνωση των εξετάσεων για τις οποίες δεν απαιτείται προσθήκη αντιδραστηρίων (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA και BL).

B. Προσθέστε τα αντιδραστήρια ως εξής:

a. PRO, NGL, ZAR

Προσθέστε 1 σταγόνα αντιδραστήριο πεπτιδάσης στα βοθρία PRO, NGL και ZAR. Περιμένετε 3–5 λεπτά για να αναπτυχθεί η χρωματική αντίδραση.

b. NO₃, NO₂

Προσθέστε 1 σταγόνα σουλφανιλικό οξύ 0,8% και, στη συνέχεια, 1 σταγόνα N,N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνη 0,5% στα βοθρία NO₃ και NO₂. Περιμένετε 3–5 λεπτά για να αναπτυχθεί η χρωματική αντίδραση.

c. IND

Προσθέστε 1–2 σταγόνες αντιδραστήριο ινδόλης HNID στο βοθρίο IND. Εμφανίζεται αμέσως χρώμα.

- C. Πρέπει να ερμηνεύσετε τις αντιδράσεις σύμφωνα με τον Πίνακα βιοχημικής ερμηνείας και να καταγράψετε τα αποτελέσματα στο φύλλο εργασίας που παρέχεται ή να εισαγάγετε τις θετικές αντιδράσεις μέσω της συσκευής ανάγνωσης touchSCAN.

Πίνακας 1, Υποστρώματα

Υποστρώματα	Συντμ.	Υποστρώματα	Συντμ.
Φωσφορικό ινδοξύλιο	IDX	Ουρία	URE
Νιτρικό	NO ₃	Ορνιθίνη	ORN
Νιτρώδη	NO ₂	Ινδόλη	IND
Γλυκόζη	GLU	L-προλυλ-β-ναφθυλαμίδη	PRO
Σακχαρόζη	SUC	N-γ-L-γλουταμυλ-β-ναφθυλαμίνη	NGL
Μαλτόζη	MAL	N-α-βενζοϋλ-DL-αργινίνη-β-ναφθυλαμίνη	ZAR
Φρουκτόζη	FRU	p-νιτροφαινυλο-α-D-γλυκοζίτης	AGL
Λακτόζη	LAC	Άμυλο	STA
ο-νιτροφαινυλο-β-D-γαλακτοζίτης	GAL	β-λακταμάση (πενικιλίνη)	BL

7. Ανάγνωση πλακών autoSCAN-4

- A. Μετά από 4 ώρες επώασης σε θερμοκρασία 35–37 °C, επιστρώστε τα βοθρία GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA και BL με παραφινέλαιο πριν προσθέσετε τα αντιδραστήρια.
- B. Προσθέστε τα αντιδραστήρια ως εξής:
- PRO, NGL, ZAR
Προσθέστε 1 σταγόνα αντιδραστήριο πεπτιδάσης στα βοθρία PRO, NGL και ZAR. Περιμένετε 3–5 λεπτά για να αναπτυχθεί η χρωματική αντίδραση.
 - NO₃, NO₂
Προσθέστε 1 σταγόνα σουλφανιλικό οξύ 0,8% και, στη συνέχεια, 1 σταγόνα N,N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνη 0,5% στα βοθρία NO₃ και NO₂. Περιμένετε 3–5 λεπτά για να αναπτυχθεί η χρωματική αντίδραση.
 - IND
Προσθέστε 1–2 σταγόνες αντιδραστήριο ινδόλης HNID στο βοθρίο IND. Εμφανίζεται αμέσως χρώμα.
- C. Αφού κάθε αντίδραση αναπτυχθεί για το κατάλληλο χρονικό διάστημα, εισαγάγετε την πλάκα στο autoSCAN-4 προς ανάγνωση.

8. Ανάγνωση πλακών στα συστήματα WalkAway

- A. Μετά από 4 ώρες επώασης, γίνεται πρώτα η ανάγνωση των εξετάσεων για τις οποίες δεν απαιτείται προσθήκη αντιδραστηρίων (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA και BL).
- B. Στη συνέχεια, το σύστημα WalkAway προσθέτει τα κατάλληλα αντιδραστήρια στα εξής: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ και IND. Στη συνέχεια, αυτές οι αντιδράσεις ερμηνεύονται.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το σύστημα WalkAway πραγματοποιεί ανάγνωση των βοθρίων για τα οποία δεν απαιτείται πρώτα η χρήση αντιδραστηρίων, ώστε να προληφθεί η αλλοίωση των αποτελεσμάτων λόγω πιθανών παγιδευμένων αναθυμιάσεων από τα αντιδραστήρια κάτω από το καπάκι του δίσκου. Επομένως, δεν είναι δυνατή η μη αυτόματη επαλήθευση των βιοχημικών αντιδράσεων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πίνακας 2

Πίνακας βιοχημικής ερμηνείας	Θετικό	Αρνητικό	Σημειώσεις
Βύθισμα			
IDX	Μπλε έως γκρι ίζημα	Διαυγές	
NO ₃	Ροζ, κόκκινο έως πορφυρό	Διαυγές έως κίτρινο	Τα αποτελέσματα καταγράφονται μετά από 3–5 λεπτά.
NO ₂	Διαυγές έως κίτρινο	Ροζ, κόκκινο έως πορφυρό	Τα αποτελέσματα καταγράφονται μετά από 3–5 λεπτά.
GLU SUC LAC	Πορτοκαλί έως κίτρινο	Κόκκινο έως κόκκινο/πορτοκαλί	Τυχόν κόκκινο χρώμα θα πρέπει να καταγράφεται ως αρνητικό αποτέλεσμα.
FRU	Κίτρινο προς κίτρινο/πορτοκαλί	Κόκκινο έως πορτοκαλί	Τυχόν κίτρινο χρώμα θα πρέπει να καταγράφεται ως θετικό αποτέλεσμα.
MAL	Κίτρινο	Κόκκινο έως κίτρινο/πορτοκαλί	

Πίνακας βιοχημικής ερμηνείας			
Βύθισμα	Θετικό	Αρνητικό	Σημειώσεις
GAL	Κίτρινο	Διαυγές	Το ελαφρώς κίτρινο χρώμα υποδεικνύει θετικό αποτέλεσμα. Μπορείτε να χρησιμοποιήσετε το βοθρίο IND πριν από την προσθήκη αντιδραστήριου ως αρνητικό μάρτυρα.
URE	Κόκκινο έως πορφυρό	Κίτρινο έως απαλό ροζ	
ORN	Πράσινο προς μπλε	Κίτρινο έως κίτρινο/πράσινο	Τυχόν κίτρινο χρώμα θα πρέπει να καταγράφεται ως αρνητικό αποτέλεσμα.
IND	Κόκκινος δακτύλιος	Κίτρινο	Τυχόν κόκκινο χρώμα θα πρέπει να καταγράφεται ως θετικό αποτέλεσμα.
PRO NGL ZAR	Κόκκινο έως πορφυρό	Κίτρινο προς πορτοκαλί	Τα αποτελέσματα θα πρέπει να καταγράφονται εντός 3–5 λεπτών. Τυχόν θολή εμφάνιση υποδεικνύει ασθενή αντίδραση ZAR.
AGL	Κίτρινο	Διαυγές	Τυχόν κίτρινο χρώμα θα πρέπει να καταγράφεται ως θετικό αποτέλεσμα. Μπορείτε να χρησιμοποιήσετε το βοθρίο IND πριν από την προσθήκη αντιδραστήριου ως αρνητικό μάρτυρα.
STA BL	Κίτρινο προς κίτρινο/πορτοκαλί	Κόκκινο έως πορτοκαλί	Τυχόν κίτρινο χρώμα θα πρέπει να θεωρείται θετικό αποτέλεσμα.
LOC	Για ευθυγράμμιση πλακών στα συστήματα autoSCAN-4 και WalkAway		

Αντιδράσεις

Φωσφατάση ινδοξυλίου (IDX) - Η αλκαλική φωσφατάση διασπά το φωσφορικό ινδοξύλιο σε ελεύθερο ινδοξύλιο, το οποίο συνδέεται με μοριακό οξυγόνο και σχηματίζει μια αδιάλυτη μπλε χημική ένωση.

Νιτρικό (NO₃) - Η ικανότητα ενός οργανισμού να ανάγει το νιτρικό σε νιτρώδες ανιχνεύεται με την προσθήκη σουλφανιλικού οξέος και κατόπιν N,N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνης, τα οποία παράγουν κόκκινο χρώμα παρουσία της νιτρώδους ομάδας.

Νιτρικό (NO₂) - Η ικανότητα ενός οργανισμού να ανάγει το νιτρικό σε ελεύθερο αέριο αζώτου ανιχνεύεται μέσω της προσθήκης σουλφανιλικού οξέος και N,N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνης. Παρουσία νιτρικού, παράγεται κόκκινο χρώμα, που υποδεικνύει αρνητικό αποτέλεσμα εξέτασης. Εάν δεν αναπτυχθεί χρώμα, σημαίνει ότι το νιτρικό έχει αναχθεί και το αποτέλεσμα της εξέτασης είναι θετικό.

Χρήση υδατανθράκων (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) - Η χρήση ενός συγκεκριμένου υδατάνθρακα προκαλεί δημιουργία οξέος, ενώ η αντίστοιχη μείωση του pH υποδεικνύεται από δείκτη ερυθρού της φαινόλης.

β-γαλακτοσιδάση (GAL) - Η β-γαλακτοσιδάση υδρολύει τον ο-νιτροφαινυλο-β-D-γαλακτοπυρανοζίτη, και έτσι απελευθερώνεται ο-νιτροφαινόλη κίτρινου χρώματος.

α-γλυκοσιδάση (AGL) - Η α-γλυκοσιδάση υδρολύει τον p-νιτροφαινυλο-α-D-γλυκοζίτη, και έτσι απελευθερώνεται p-νιτροφαινόλη κίτρινου χρώματος.

Ουρία (URE) - Το ένζυμο ουρεάση διασπά την ουρία και σχηματίζει αμμωνία, ενώ η παρεπόμενη αύξηση του pH ανιχνεύεται από δείκτη ερυθρού της φαινόλης.

Ορνιθίνη (ORN) - Η αποκαρβοξυλίωση της ορνιθίνης προκαλεί αλκαλοποίηση του θρεπτικού υλικού, η οποία ανιχνεύεται από τον δείκτη pH κυανού της βρωμοθυμόλης.

Ινδόλη (IND) - Ο μεταβολισμός της τρυπτοφάνης έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ινδόλης, η οποία ανιχνεύεται με την προσθήκη αντιδραστήριου ινδόλης HNID. Παρουσία ινδόλης, σχηματίζεται ένας κόκκινος δακτύλιος.

Πεπτιδάσες (PRO, NGL, ZAR) - Η ικανότητα ενός οργανισμού να παράγει ένα συγκεκριμένο ένζυμο πεπτιδάσης προσδιορίζεται διαχωρίζοντας το κατάλληλο αμινοξύ από τη σύνδεσή του με τη β-ναφθυλαμίνη. Στη συνέχεια, η ελεύθερη β-ναφθυλαμίνη ανιχνεύεται όταν δημιουργεί σύμπλεγμα με την p-διμεθυλαμινοκιναμαλδεΐδη, δημιουργώντας χρωματισμό που κυμαίνεται από κόκκινο έως πορφυρό.

β-λακταμάση (BL) - Η πενικιλίνη G υποβαθμίζεται από τη β-λακταμάση σε πενικιλλοϊκό οξύ. Η αλλαγή του pH ανιχνεύεται από δείκτη ερυθρού της φαινόλης.

Ταυτοποίηση οργανισμών

Το HNID Biotype Codebook (Βιβλίο κωδικοποίησης HNID) της MicroScan χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση των άγνωστων οργανισμών της εξέτασης. Το Βιβλίο κωδικοποίησης έχει δημιουργηθεί από τη βάση δεδομένων της MicroScan, η οποία περιέχει πληροφορίες που συλλέχθηκαν από εξετάσεις που περιλαμβάνονται στην πλάκα HNID.

Το Βιβλίο κωδικοποίησης βιότυπων παρέχει υπολογιστική ανάλυση 17 εξετάσεων για την ταυτοποίηση άγνωστων οργανισμών. Αυτές οι εξετάσεις μεταφράζονται σε έναν 6ψήφιο «αριθμό βιότυπου», για τον οποίο καταγράφεται στο Βιβλίο κωδικοποίησης η ταυτοποίηση του οργανισμού και η σχετική πιθανότητά της. Ανατρέξτε στο HNID Biotype Codebook (Βιβλίο κωδικοποίησης βιότυπων HNID) για τη διαδικασία δημιουργίας ενός αριθμού βιότυπου. Όταν για κάποιον αριθμό βιότυπου παρατίθεται μόνο ένας οργανισμός, η σχετική πιθανότητα είναι 99,9%. Εάν είναι δυνατή η ταυτοποίηση περισσότερων από ενός ειδών για έναν συγκεκριμένο αριθμό βιότυπου, όλες οι πιθανότητες αναγράφονται ξεκινώντας από τη μέγιστη πιθανότητα και φτάνοντας σε αθροιστικό σύνολο 99,9%.

Εάν προκύψει αριθμός βιότυπου που δεν περιλαμβάνεται στο Βιβλίο κωδικοποίησης, συνιστάται η επανάληψη της εξέτασης με πρόσφατη καλλιέργεια. Εάν προκύψουν τα ίδια αποτελέσματα μετά την επανεξέταση, συμβουλευτείτε το Biotype Lookup Service (Υπηρεσία αναζήτησης βιότυπων) στον ιστότοπο της Beckman Coulter ή απευθυνθείτε στον τοπικό σας διανομέα.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Εάν παρατίθεται η ταυτοποίηση περισσότερων από ενός ειδών για έναν συγκεκριμένο αριθμό βιότυπου, ενδέχεται να είναι αναγκαία η διενέργεια συμπληρωματικών εξετάσεων με σκοπό τη σωστή ταυτοποίηση. Θα πρέπει να διεξαχθεί επίσης εξέταση για άλλα κριτήρια, όπως οι παράγοντες X και V και η αερανεκτικότητα.
- Η εξέταση είναι εφικτή μόνο για το είδος *Haemophilus*, το είδος *Neisseria*, το *Branhamella catarrhalis* και το *Gardnerella vaginalis*. Μην χρησιμοποιείτε αυτό το προϊόν για άλλους κόκκους και βάκιλλους.
- Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης απαιτείται εκπαιδευμένο κλινικό προσωπικό, το οποίο θα πρέπει να χρησιμοποιεί την κρίση του, τις γνώσεις του και επιπλέον εξετάσεις επιβεβαίωσης, όπου απαιτείται, πριν από την αποδοχή της ταυτοποίησης ενός οργανισμού. Ανατρέξτε στις υποσημειώσεις που παρατίθενται στο HNID Biotype Codebook (Βιβλίο κωδικοποίησης βιότυπων HNID) ή το Microbiology Information Manual (Εγχειρίδιο πληροφοριών μικροβιολογικών εξετάσεων).
- Οι αριθμοί βιότυπων δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση φαινότυπων στελεχών τα οποία έχουν απομονωθεί από διάφορα δείγματα του ίδιου ασθενούς.
- Στις κατευθυντήριες οδηγίες CLSI M7-A7, τόμος 26, αρ. 2, συνιστάται δοκιμασία β-λακταμάσης με βάση τη νιτροσεφίνη για την εξέταση για *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
- Οι ομάδες βιότυπων για το είδος *Haemophilus* δεν συσχετίζονται με ορότυπους, δηλ. το *Haemophilus influenzae* II δεν ανήκει σίγουρα στην ομάδα B. Ο προσδιορισμός του ορότυπου είναι απαραίτητος.
- Κάποιες φορές, κάποια στελέχη *N. meningitidis* δεν παράγουν οξύ από τη μαλτόζη. Αυτά τα στελέχη ενδέχεται να οδηγήσουν σε εσφαλμένη ταυτοποίηση του *N. gonorrhoeae* αν το NGL είναι και αυτό αρνητικό. Ανατρέξτε στις υποσημειώσεις που παρατίθενται στο HNID Biotype Codebook (Βιβλίο κωδικοποίησης βιότυπων HNID) ή το Microbiology Information Manual (Εγχειρίδιο πληροφοριών μικροβιολογικών εξετάσεων).
- Τα απομονωμένα στελέχη *H. haemolyticus* που έχουν αναπτυχθεί σε σοκολατούχο άγαρ ενδέχεται να ταυτοποιηθούν εσφαλμένα ως *H. influenzae*. Για τον διαχωρισμό μεταξύ *H. haemolyticus* και *H. influenzae* μπορεί να χρησιμοποιηθεί αιμόλυση σε άγαρ με αίμα αλόγου.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Ανατρέξτε στο διάγραμμα Ποσοστού θετικών αντιδράσεων HNID για τα αναμενόμενα αποτελέσματα για κάθε εξέταση και κάθε είδος. (Βλ. Πίνακα 3.)

Πίνακας 3 Διάγραμμα πιθανότητας Ποσοστό θετικών αντιδράσεων HNID ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus</i> /paraphrophilus	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
Είδος <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

- Οι Τιμές ερμηνειών θετικών αντιδράσεων που εμφανίζονται σε αυτόν τον πίνακα δεν είναι πραγματικά ποσοστά αλλά αναπαράσταση βάσει δημοσιευμένων δεδομένων και αποτελεσμάτων MicroScan.
- Το *Haemophilus influenzae* VI-1 είναι ο βιότυπος σύμφωνα με την ταξινόμηση βιότυπων Oberhofer. Το *Haemophilus influenzae* VI-2 είναι ο βιότυπος VI σύμφωνα με την ταξινόμηση βιότυπων Killian.¹⁸

Οι αναμενόμενες αντιδράσεις έχουν εκφραστεί μέσω εννέα τιμών:					
Τιμή	Σημασία	Τιμή	Σημασία	Τιμή	Σημασία
1	Θετ. αντίδραση πολύ σπάνια	25	Πλειοψηφία αντιδράσεων αρνητική	90	Αρν. αντίδραση μη συνήθης
5	Θετ. αντίδραση σπάνια	50	Θετ. ή αρν. αντίδραση	95	Αρν. αντίδραση σπάνια
10	Θετ. αντίδραση μη συνήθης	75	Πλειοψηφία αντιδράσεων θετική	99	Αρν. αντίδραση πολύ σπάνια

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η καθαρότητα της καλλιέργειας θα πρέπει να ελέγχεται με υποκαλλιέργεια μέρους του εναιωρήματος ενοφθαλμίσματος σε κατάλληλο θρεπτικό υλικό άγαρ. Τα αποτελέσματα της εξέτασης δεν θεωρούνται έγκυρα αν ανιχνευτεί μικτή καλλιέργεια. Μπορείτε να ελέγξετε την αποδεκτότητα των μέσων ταυτοποίησης μέσω δοκιμασιών με τα εξής στελέχη: (Πίνακας 4.)

Πίνακας 4

Πίνακας ποιοτικού ελέγχου

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Θετικό αποτέλεσμα μπορεί να ληφθεί με το *Neisseria mucosa* ATCC 49233.

2. Θετικό αποτέλεσμα μπορεί να ληφθεί με το *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.

3. Θετικό αποτέλεσμα μπορεί να ληφθεί με το *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

ΔΗΛΩΣΗ ΕΓΓΥΗΣΗΣ

Το σύστημα καλύπτεται από και υπόκειται στις διατάξεις της εγγύησης που περιλαμβάνεται στη συμβατική συμφωνία σας για το σύστημα ή τα αντιδραστήριά του. Ο πελάτης είναι υπεύθυνος για διαδικασίες προληπτικής συντήρησης ρουτίνας. Οι επισκευές που οφείλονται σε παράλειψη αυτών των διαδικασιών συντήρησης στα ενδεικνυόμενα χρονικά διαστήματα πραγματοποιούνται κατά την κρίση της Beckman Coulter και με χρέωση του πελάτη.

Υπόμνημα συμβόλων

Υπόμνημα συμβόλων			
Σύμβολο	Τίτλος συμβόλου	Περιγραφή προτύπου	Πρότυπο
Ⓢ	Να μην επαναχρησιμοποιείται	Υποδεικνύει μια ιατρική συσκευή που προορίζεται για μία μόνο χρήση ή για χρήση σε έναν μόνο ασθενή στο πλαίσιο μίας και μοναδικής διαδικασίας.	ISO 15223-1; 5.4.2
⌚	Χρήση έως	Υποδεικνύει την ημερομηνία μετά το πέρας της οποίας δεν πρέπει να χρησιμοποιείται η ιατρική συσκευή.	ISO 15223-1; 5.1.4

Υπόμνημα συμβόλων			
Σύμβολο	Τίτλος συμβόλου	Περιγραφή προτύπου	Πρότυπο
	Αριθμός παρτίδας	Υποδεικνύει τον αριθμό παρτίδας του κατασκευαστή ώστε να είναι δυνατή η αναγνώριση της παρτίδας.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Κωδικός καταλόγου	Υποδεικνύει τον αριθμό καταλόγου του κατασκευαστή, ώστε να είναι δυνατή η αναγνώριση της ιατρικής συσκευής.	ISO 15223-1, παράγραφος 5.1.6
	Κατασκευαστής	Υποδεικνύει τον κατασκευαστή της ιατρικής συσκευής όπως ορίζεται στις οδηγίες 90/385/ΕΟΚ, 93/42/ΕΟΚ και 98/79/ΕΚ της ΕΕ.	ISO 15223-1, παράγραφος 5.1.1
	Ημερομηνία κατασκευής	Υποδεικνύει την ημερομηνία κατασκευής της ιατρικής συσκευής.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα	Υποδεικνύει τον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπο στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα.	ISO 15223-1, παράγραφος 5.1.2
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <h> εξετάσεις	Υποδεικνύει τον συνολικό αριθμό εξετάσεων IVD που μπορούν να πραγματοποιηθούν με τη συσκευή IVD. (Περιλαμβάνεται συνήθως στα kit αντιδραστηρίων.)	ISO 15223-1; 5.5.5
	<i>In vitro</i> διαγνωστική ιατρική συσκευή	Υποδεικνύει μια ιατρική συσκευή που προορίζεται για χρήση ως ιατρική συσκευή για διάγνωση <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, παράγραφος 5.5.1
	Περιορισμοί θερμοκρασίας	Υποδεικνύει τα όρια θερμοκρασίας στα οποία η ιατρική συσκευή μπορεί να εκτεθεί με ασφάλεια.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Υποδεικνύει ότι ο χρήστης είναι απαραίτητο να συμβουλευτεί τις οδηγίες χρήσης.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Σήμανση CE	Ρυθμιστική σήμανση ευρωπαϊκής συμμόρφωσης	Δ/Ι
	Περιεχόμενα	Δ/Ι	Δ/Ι
	Περιεχόμενα (συσκευασία)	Αντιμικροβιακός παράγοντας (σύντηξη)	Δ/Ι
	Περιεχόμενα (συσκευασία)	Υπόστρωμα ταυτοποίησης (σύντηξη)	Δ/Ι
	Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας	Υποδεικνύει ένα δελτίο δεδομένων ασφαλείας.	Δ/Ι

Υπόμνημα συμβόλων			
Σύμβολο	Τίτλος συμβόλου	Περιγραφή προτύπου	Πρότυπο
	Made in USA	Δ/Ι	Δ/Ι
	Χρήση μόνο για εξαγωγή	Δ/Ι	Δ/Ι
	Όγκος ανασύστασης	Δ/Ι	Δ/Ι
	Εύθραυστο, να χρησιμοποιείται με προσοχή	Υποδεικνύει μια ιατρική συσκευή που μπορεί να σπάσει ή να υποστεί φθορά εάν ο χειρισμός της δεν γίνει σωστά.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Αυτή η πλευρά προς τα πάνω	Υποδεικνύει τη σωστή όρθια θέση της συσκευασίας	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Προϊόντα για ιατρική χρήση - Σύμβολα που πρέπει να χρησιμοποιούνται με τις ετικέτες, την επισήμανση και τις πληροφορίες που πρέπει να παρέχονται για τα προϊόντα για ιατρική χρήση. Μέρος 1: Γενικές απαιτήσεις).			

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

MicroScan

HNID 操作手册

REF B1012-10B

预期用途

HNID 系统设计用于快速鉴定和检测 *Neisseria* 种、*Haemophilus* 种、*Branhamella catarrhalis* 和 *Gardnerella vaginalis* 中产生的 β -内酰胺酶。还可以用于 *Haemophilus influenzae* 和 *Haemophilus parainfluenzae* 的生物分型。

摘要和原理

使用经过改良的常规显色测试鉴定苛养革兰氏阴性球菌和杆菌。^{1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12} 待测微生物的 McFarland 3 悬液在特殊的接种用液体培养基中配制。然后将 HNID 测试组合放置在液体培养基中进行再水化和接种，并孵育 4 小时。孵育后，结合 pH 值的变化、特定底物的使用或其他生化反应进行判读鉴定。检测 β -内酰胺酶时采用快速酸定量方法。^{13、14、15}

警告和注意事项

HNID 测试组合和试剂仅供体外诊断使用。不要让肽酶试剂或 HNID 吲哚试剂接触到眼睛、皮肤或衣物。在整个操作过程中，遵照无菌技术和已有的微生物危害预防措施，并特别注意已接种的测试组合中是否包含具有潜在致病性的微生物。

储存

储存在 2-8°C 下。用 HNID 接种用液体培养基再水化后，如果发现任何底物发生阳性反应，请丢弃测试组合。请参考生化判读图表，了解阳性显色反应。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书见 techdocs.beckmancoulter.com

样本的采集 和准备

按照 *Manual of Clinical Microbiology* (临床微生物学手册) 中规定的实验室规程采集标本并将标本放置于原代分离培养基上。¹⁶

提供的材料

HNID 测试组合 (B1012-10B)

操作手册

HNID 生物型代码本

工作表

所需但未提供的材料

HNID 接种用液体培养基 (B1015-16)

肽酶试剂 (B1012-30B)

盖盘 (B1010-56B)

矿物油，60 mL (B1010-40)

矿物油，250 mL (B1010-40A) – 仅用于搭配 WalkAway S/ 仪器 (以及带有矿物油自动覆盖功能的升级 WalkAway 仪器)

0.5% N,N-二甲基- α -萘胺 (B1010-45A)

HNID 吲哚试剂 (B1015-15)

0.8% 磺胺酸 (B1010-44A)

带无菌吸头的 50 μ L 移液器

无菌木质棉球棍或无菌接种环

3 McFarland 硫酸钡浊度标准液

4 McFarland 硫酸钡浊度标准液

旋涡振荡器

35-37°C 非 CO₂ 孵育箱

质量控制微生物：

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

方法

1. 检测板的制备

从冰箱中取出并立即从箔袋中取出测试组合。如果发现干燥剂包缺失或破损、或者测试组合包装不完整（未密封、被刺破或撕破），请勿使用该测试组合。使用前，让测试组合和 HNID 接种用液体培养基达到室温。可将测试组合叠放在一起，顶部用干净的盖板覆盖。

2. 微生物制备

使用无菌棉球棍或无菌接种环，从一个 18 – 24 小时的原代分离平板培养基（血液、巧克力、GV 或 Thayer Martin 琼脂）上转移足量形态相似的菌落到相当于 3 McFarland 硫酸钡浊度标准液的 HNID 接种用液体培养基中。*Neisseria* 种需要 4 McFarland 硫酸钡浊度标准液。对接种用液体培养基进行涡旋后再接种测试组合。不要使用低于 3 McFarland 的硫酸钡浊度标准液接种任何 HNID 测试组合。

3. 接种

将 50 µL (0.05 mL) 接种用液体培养基转移到 HNID 测试组合每个标记的孔中。应使用带无菌吸头的 50 µL 移液器。MicroScan 建议在每次进行测试组合接种后，将 1 滴多余的接种用液体培养基移种到合适的培养基中用作纯度检查。
注释：用于 autoSCAN-4 和 WalkAway 系统时，还必须对 LOC 孔进行再水化。

4. 生物化学油覆盖

使用滴瓶，用 2 – 3 滴矿物油覆盖 URE 孔。应完全覆盖住孔中的培养基，但不应从孔中溢出。
注释：WalkAway SI 仪器（以及带有矿物油自动覆盖功能的升级 WalkAway 仪器）可自动向 URE 孔中滴入矿物油。

5. 孵育

在非 CO₂ 孵育箱中以 35-37°C 的温度将接种过的测试组合孵育 4 小时。以 4 – 5 个一组叠放测试组合，将盖板置于顶部测试组合的顶部以防蒸发。

6. 可视化或 touchSCAN 测试组合读取

- A. 在 35-37°C 下孵育 4 小时后，应首先读取不需要添加试剂（IDX、GLU、SUC、MAL、FRU、LAC、GAL、URE、ORN、AGL、STA 和 BL）的测试。
- B. 按照下述步骤加入试剂：
 - a. PRO、NGL、ZAR
向 PRO 孔、NGL 孔和 ZAR 孔中添加 1 滴肽酶试剂。等待 3-5 分钟，以发生显色反应。
 - b. NO₃、NO₂
将 1 滴 0.8% 对氨基苯磺酸和 1 滴 0.5% N,N-二甲基-α-萘胺添加到 NO₃ 和 NO₂ 孔中。等待 3-5 分钟，以发生显色反应。
 - c. IND
将 1-2 滴 HNID 吡啶试剂添加到 IND 孔中。将立即显色。
- C. 根据生化判读图表判读反应并将结果记录在提供的工作表中，或者通过 touchSCAN 读取器输入阳性反应。

表 1，底物

底物	缩写	底物	缩写
吡羟磷酸盐	IDX	脲	URE
硝酸盐	NO ₃	鸟氨酸	ORN
亚硝酸盐	NO ₂	吡啶	IND
葡萄糖	GLU	L-脯氨酰-β-萘酰胺	PRO
蔗糖	SUC	N-γ-L-谷氨酰-β-萘酰胺	NGL
麦芽糖	MAL	N-α-苯甲酰基-DL-精氨酸-β-萘酰胺	ZAR
果糖	FRU	对硝基苯基-α-D-葡萄糖苷	AGL

*美国标准菌种保藏中心，地址：Manassas, VA USA

底物	缩写	底物	缩写
乳糖	LAC	淀粉	STA
邻硝基苯基-β-D-半乳糖苷	GAL	β-内酰胺酶 (青霉素)	BL

7. autoSCAN-4 测试组合读取

- 在 35-37°C 下孵育 4 小时后，用矿物油覆盖 GLU、SUC、MAL、FRU、LAC、STA 和 BL，然后再添加试剂。
- 按照下述步骤加入试剂：
 - PRO、NGL、ZAR
向 PRO 孔、NGL 孔和 ZAR 孔中添加 1 滴肽酶试剂。等待 3-5 分钟，以发生显色反应。
 - NO₃、NO₂
将 1 滴 0.8% 对氨基苯磺酸和 1 滴 0.5% N,N-二甲基-α-萘胺添加到 NO₃ 和 NO₂ 孔中。等待 3-5 分钟，以发生显色反应。
 - IND
将 1-2 滴 HNID 吲哚试剂添加到 IND 孔中。将立即显色。
- 在每种反应显色一段适当的时间后，将测试组合插入 autoSCAN-4 中进行读取。

8. WalkAway 系统测试组合读取

- 孵育 4 小时后，首先读取不需要添加试剂 (IDX、GLU、SUC、MAL、FRU、LAC、GAL、URE、ORN、AGL、STA 和 BL) 的测试。
- 然后，WalkAway 向下列孔中添加适当的试剂：PRO、NGL、ZAR、NO₃、NO₂ 和 IND。然后判读这些反应。
注释：WalkAway 首先读取不需要试剂的孔，以防托盘盖子下可能阻留的试剂烟雾造成结果改变。因此，不能手动验证生化试剂。

结果

表 2

生化判读图表

Well	阳性	阴性	注：
IDX	蓝色到灰色沉淀物	透明	
NO ₃	粉色、红色到品红	清澈到黄色	3-5 分钟后记录结果。
NO ₂	清澈到黄色	粉色、红色到品红	3-5 分钟后记录结果。
GLU SUC LAC	橙色到黄色	红色到红色/橙色	所有的红色均应记录为阴性。
FRU	黄色到黄色/橙色	红色到橙色	所有的黄色均应记录为阳性。
MAL	黄色	红色到黄色/橙色	
GAL	黄色	透明	淡黄色为阳性。添加试剂前将 IND 孔用作阴性对照。
URE	红色到品红	黄色到淡粉色	
ORN	绿色到蓝色	黄色到黄色/绿色	所有的黄色均应记录为阴性。
IND	红环	黄色	所有的红色均应记录为阳性。
PRO NGL ZAR	红色到品红	黄色到橙色	应在 3-5 分钟内记录结果。混浊表示 ZAR 反应弱。
AGL	黄色	透明	所有的黄色均应记录为阳性。添加试剂前将 IND 孔用作阴性对照。
STA BL	黄色到黄色/橙色	红色到橙色	所有的黄色均应视为阳性。
LOC	用于 autoSCAN-4 和 WalkAway 系统测试组合对准		

反应

吲哚酚磷酸酶 (IDX) - 碱性磷酸酶将吲羟磷酸盐分解为游离吲哚酚，游离吲哚酚与分子氧结合形成蓝色的不溶性化合物。

硝酸盐 (NO₃) - 微生物可使硝酸盐还原为亚硝酸盐，可通过添加对氨基苯磺酸随后添加 N,N-二甲基-α-萘胺加以检测。如果生成红色，则表明存在亚硝酸盐。

亚硝酸盐 (NO₂) - 微生物可使亚硝酸盐还原成游离氮气，可通过添加对氨基苯磺酸随后添加 N,N-二甲基-α-萘胺加以检测。如果测试结果为阴性，且形成红色，则表明存在亚硝酸盐。如果没有形成颜色，则亚硝酸盐已被还原，测试结果为阳性。

碳水化合物利用 (GLU、SUC、MAL、FRU、LAC、STA) - 利用特定的碳水化合物会产生酸，导致 pH 值下降，可通过酚红指示剂指示。

β-半乳糖苷酶 (GAL) - β-半乳糖苷酶可水解邻硝基苯基-β-D-半乳糖苷，释放黄色的邻硝基苯酚。

α-葡萄糖苷酶 (AGL) - α-葡萄糖苷酶可水解对硝基苯基-α-D-葡萄糖苷，释放黄色的对硝基苯酚。

尿素 (URE) - 尿素酶分解尿素形成氨，导致 pH 值升高，可通过酚红指示剂检测。

鸟氨酸 (ORN) - 鸟氨酸脱羧会导致培养基碱化，可通过溴百里酚蓝 pH 指示剂检测。

吲哚 (IND) - 色氨酸代谢生成吲哚，这可通过添加 HNID 吲哚试剂加以检测。如果存在吲哚，会形成红环。

肽酶 (PRO、NGL、ZAR) - 微生物可产生特定的肽酶，这可以通过将适当的氨基酸链分解为 β-萘酰胺来测定。然后，可以与对二甲氨基苯甲醛络合产生红色至品红色，以此检测游离 β-萘酰胺。

β-内酰胺酶 (BL) - β-内酰胺酶将青霉素 G (Pencillin G，苄青霉素) 降解为青霉噻唑酸。可通过酚红指示剂检测 pH 值的变化。

微生物鉴定

MicroScan HNID 生物型代码本用于鉴定未知的受检微生物。该代码本根据 MicroScan 数据库生成，数据库的信息汇编自 HNID 测试组合上执行的测试。

该生物型代码本提供 17 种测试的计算机分析，用以鉴定未知微生物。这些测试将转译为 6 位数的“生物型码”，代码本据此列出微生物鉴定结果及其相对概率。请参考 HNID 生物型代码本，了解生成生物型码的程序。若仅为一个生物型码列出一微生物，则相对概率为 99.9%。如果某个特定生物型码可能对应多个种属鉴定结果，则按照概率从高到低的顺序打印所有可能的结果，累积总概率最高可达 99.9%。

如果产生的生物型码未列于代码本中，我们建议用新鲜的培养液重复测试。如果重新测试后产生的结果相同，则查阅贝克曼库尔特公司网站上的生物型查找服务或咨询您当地的分销商。

程序的局限性

- 1. 如果针对某个特定生物型码列出多个种属鉴定结果，可能需要进行补充测试来进行正确鉴定。还应执行其他标准的测试，如 X 因子和 V 因子及耐氧。
- 2. 只能测试 *Haemophilus* 种、*Neisseria* 种、*Branhamella catarrhalis* 和 *Gardnerella vaginalis* - 不要将本品用于其他球杆菌微生物。
- 3. 需要由受过专业培训的临床工作人员判读测试结果，这些专业人员需综合运用其判断、知识和所需的其他确证试验，然后才能接受微生物鉴定结果。请参考 HNID 生物型代码本中所列的脚注或《微生物信息手册》。
- 4. 生物型码不得用于分离自同一患者不同标本的菌株表型鉴定。
- 5. CLSI 指南 M7-A7，第26 卷 2 期建议通过基于头孢噻吩的 β-内酰胺酶测试来测试 *Branhamella catarrhalis*。¹⁷
- 6. *Haemophilus* 种的生物型组与血清型无关，即 *Haemophilus influenzae* II 一定不是 B 组。需要进行血清学分型。
- 7. 有时候，*N. meningitidis* 的一些菌株不会从麦芽糖中产生酸。如果 NGL 也是阴性的，这些菌株可能造成 *N. gonorrhoeae* 的鉴定错误。请参考 HNID 生物型代码本中所列的脚注或《微生物信息手册》。
- 8. 在巧克力琼脂上生长的 *H. haemolyticus* 分离株可能会被错误地鉴定为 *H. influenzae*。马血琼脂上的溶血现象可能用于区别 *H. Haemolyticus* 和 *H. influenzae*。

预期值

请参考 HNID 阳性反应百分比图表，了解每种测试和每一菌种的预期结果。(请参阅表 3。)

表 3 概率图表 HNID 阳性反应百分比 ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus</i> / <i>paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1

表 3 概率图表 HNID 阳性反应百分比 ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Neisseria</i> 种	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. 此表中显示的阳性反应判读值不是实际百分比，但根据发布的数据和 MicroScan 结果表示。
2. *Haemophilus influenzae* VI-1 是 Oberhofer 生物型分类中的生物型。*Haemophilus influenzae* VI-2 是 Kilian 生物型分类中的生物型 VI。¹⁸

用九个值表达预期反应：					
值	含义	值	含义	值	含义
1	阳性反应非常罕见	25	大多数反应为阴性	90	阴性反应不常见
5	阳性反应罕见	50	阳性或阴性反应	95	阴性反应罕见
10	阳性反应不常见	75	大多数反应为阳性	99	阴性反应非常罕见

质量控制

应将培养液从接种用悬液移种到合适的琼脂培养基上，以检测培养液的纯度。如果检测到混合培养液，测试结果无效。可以通过测试以下菌株来检查鉴定培养基的可接受性：(表 4.)

表 4

质控表

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. *Neisseria mucosa* ATCC 49233 可能获得阳性结果。
2. *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130 可能获得阳性结果。
3. *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145 可能获得阳性结果。

保修声明

本系统受本系统及其试剂的合约协议中明定的保修条款保护和约束。客户负责执行常规的预防性维护程序。对于因不按指定的时间间隔执行这些维护程序而导致的维修，由贝克曼库尔特公司决定具体维修事宜并由客户负责费用。

符号注解

符号注解			
符号	符号名称	标准说明	标准
ⓧ	请勿重复使用	指示医疗设备为一次性用品，或者适用于在单次手术中为单名患者使用。	ISO 15223-1；5.4.2
🕒	使用期限	指示医疗设备的最后使用日期。	ISO 15223-1；5.1.4
LOT	批号	指示制造商的批次代码，以用于标识批次。	ISO 15223-1；5.1.5

符号注解

符号	符号名称	标准说明	标准
	目录号	指示制造商的产品目录号，以用于识别医疗设备。	ISO 15223-1；第 5.1.6 条
	制造商	根据欧盟指令 90/385/EEC、93/42/EEC 和 98/79/EC 的规定指示医疗设备的制造商。	ISO 15223-1；第 5.1.1 条
	生产日期	指示医疗设备的生产日期。	ISO 15223-1；5.3.1
	欧洲共同体授权代表	指示欧洲共同体授权代表。	ISO 15223-1；第 5.1.2 条
	内含物品足够进行 <n> 次测试	指示可使用 IVD 执行的 IVD 测试总数。（通常标注在试剂盒上）。	ISO 15223-1；5.5.5
	体外诊断医疗设备	指示医疗设备适用于作为体外诊断医疗设备使用。	ISO 15223-1；第 5.5.1 条
	温度限制	指示医疗设备可安全接触的温度限制。	ISO 15223-1；5.3.7
	请参阅使用说明	指示用户需要参阅使用说明。	ISO 15223-1；5.4.3
	CE 标志	欧盟 CE 认证法规标志	不适用
	内置物	不适用	不适用
	内容物（包装）	抗菌剂（缩写）	不适用
	内容物（包装）	鉴定底物（缩写）	不适用
	化学品安全技术说明书	指示化学品安全技术说明书。	不适用
	Made in USA	不适用	不适用
	仅供出口	不适用	不适用
	复溶体积	不适用	不适用
	易碎，小心处理	指示医疗设备若处理不当，则可能被打碎或损坏。	ISO 15223-1；5.3.1
	此面向上	指示正确的直立位置	ISO 7000：0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements. (ISO 15223-1：医疗设备 — 用于医疗设备标签、作标记和提供信息的符号。第 1 部分：通用要求。)			

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

„MicroScan“

HNID procedūrų vadovas

REF B1012-10B

PASKIRTIS

HNID sistema skirta *Neisseria* rūšių, *Haemophilus* rūšių, *Branhamella catarrhalis* ir *Gardnerella vaginalis* gaminamai β-laktamazei greitai identifikuoti ir aptikti. Taip pat galima nustatyti *Haemophilus influenzae* ir *Haemophilus parainfluenzae* biotipą.

SUVESTINĖ IR PRINCIPAS

Modifikuoti standartiniai ir chromogeniniai tyrimai naudojami lepiams gramneigiamiems kokams ir bakterijoms identifikuoti.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Tirtino mikroorganizmo 3 McFarland suspensija ruošama specialioje inokulianto terpėje. HNID plokštelė rehidratuojama ir inokuliuojama iš terpės bei inkubuojama 4 valandas. Po inkubacijos identifikavimo tikslais interpretuojami pH pasikeitimai ir tam tikrų substratų naudojimas ar kitos biomecheminės reakcijos. Greitas acidimetrisinis metodas naudojamas β-laktamazės fermentui aptikti.^{13,14,15}

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

HNID plokštelės ir reagentai skirti tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui. Saugokitės, kad peptidazės reagento ar HNID indolo reagento nepatektų į akis, ant odos ar drabužių. Atlikdami procedūrą, taikykite aseptines technikas ir nustatytas atsargumo priemones dėl mikrobiologinių pavojų, ypač atkreipkite dėmesį į tai, kad inokuliuotose plokštelėse gali būti patogeninių mikroorganizmų.

LAIKYMAS

Laikykite 2–8 °C temperatūroje. Po rehidratavimo su HNID inokulianto terpe išmeskite plokštelę, jei bet kuriame substrate gauta teigiama reakcija. Teigiamas spalvines reakcijas žr. biocheminio interpretavimo lentelėje.

VISUOTINAI SUDERINTOS SISTEMOS (GHS) PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga



Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje techdocs.beckmancoulter.com

MĖGINIO PAĖMIMAS IR PARUOŠIMAS

Mėginius reikia paimti ir užsėti į pirminę išskyrimo terpę laikantis laboratorijos procedūrų, aprašytų „Manual of Clinical Microbiology“ (Klinikinės mikrobiologijos vadove).¹⁶

PATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

HNID plokštelė (B1012-10B)

Procedūrų vadovas

HNID biotipų kodų knygelė

Darbo lapas

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

HNID inokulianto terpė (B1015-16)

Peptidazės reagentas (B1012-30B)

Dengiamasis dėklas (B1010-56B)

Mineralinė alyva, 60 ml (B1010-40)

Mineralinė alyva, 250 ml (B1010-40A) – tik prietaisams „WalkAway SI“ (ir prietaisams „WalkAway“, atnaujinantiems įdiegiant automatinio padengimo alyva funkciją)

0,5 % N,N-dimetil-α-naftilaminas (B1010-45A)

HNID indolo reagentas (B1015-15)

0,8 % sulfanilo rūgštis (B1010-44A)

50 μl automatinė pipetė su steriliais antgaliais

Sterilios medinės aplikatoriaus lazdelės ar sterili inokuliacijos kilpelė

3 McFarlando bario sulfato drumstumo standartas

4 McFarlando bario sulfato drumstumo standartas

Sūkurinė maišyklė

35–37 °C ne CO₂ inkubatorius

Kokybės kontrolės mikroorganizmai:

C29877–AB

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCEDŪRA

1. Plokštelių paruošimas

Išimkite plokštelę iš šaldytuvo ir *nedelsdami* išimkite iš folijos maišelio. **Plokštelių naudoti negalima, jei nėra džioviklio arba jis sulūžęs, arba jei pažeistas pakuotės vientisumas (pakuotė atidaryta, pradurta ar įplėšta).** Prieš naudodami, palaukite, kol plokštelė ir HNID inokulianto terpė sušils iki kambario temperatūros. Plokštelės gali būti sudėtos viena ant kitos, su švairiu dengiamuoju dėklu ant viršaus.

2. Mikroorganizmų paruošimas

Sterilia aplikatoriaus lazdele ar sterilia inokuliacijos kilpele perkelkite pakankamai morfologiškai panašių kolonijų iš 18–24 valandų pirminio išskyrimo lėkštelės (kraujo, šokoladinio, GV ar „Thayer Martin“ agaro) į HNID inokulianto terpę, palyginamą su 3 McFarland bario sulfato drumstumo standartu. *Neisseria* rūšių atveju pageidautina naudoti 4 McFarland bario sulfato drumstumo standartą. Sumaišykite inokulianto terpę prieš inokuliuodami plokštelę. Nenaudokite mažesnio, nei 3 McFarland bario sulfato drumstumo standarto bet kokioms HNID plokštelėms inokuliuoti.

3. Inokuliacija

Į kiekvieną HNID plokštelės pažymėtą šulinėlį perkelkite po 50 µl (0,05 ml) inokulianto terpės. Reikia naudoti 50 µl automatinę pipetę su steriliu antgaliu. Po kiekvienos plokštelės inokuliacijos „MicroScan“ rekomenduoja pasėti 1 lašą perteklinės inokulianto terpės į tinkamą terpę kaip grynumo patikrinimą.

PASTABA: naudojant su sistemomis „autoSCAN-4“ ir „WalkAway“, taip pat reikia rehidratuoti LOC.

4. Biocheminiai padengimai alyva

Naudodamiesi lašinamuoju buteliuku padenkite URE šulinėlį 2–3 lašais mineralinės alyvos. Terpė šulinėlyje turi būti visiškai padengta, tačiau šulinėlis turi būti neperpildytas.

PASTABA: prietaisai „WalkAway S“ prietaisai (ir prietaisai „WalkAway“, atnaujinti įdiegiant automatinio padengimo alyva funkciją) automatiškai įpila alyvos į URE šulinėlį.

5. Inkubavimas

Inokuliuotas plokštes 4 valandas inkubuokite ne CO₂ inkubatorijoje, 35–37 °C temperatūroje. Sudėkite plokštes grupėmis po 4–5 plokštes su dengiamuoju dėklu ant viršutinės plokštelės, kad apsaugotumėte nuo garavimo.

6. Vizualinis plokštelių nuskaitymas arba nuskaitymas naudojant „touchSCAN“

A. Po 4 valandų inkubacijos 35–37 °C temperatūroje pirmiausia reikia nuskaityti tuos tyrimus, kuriems nereikia pridėti reagentų (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA ir BL).

B. Pridėkite reagentus šia tvarka:

a. PRO, NGL, ZAR

Į PRO, NGL ir ZAR šulinėlius įlašinkite po 1 lašą peptidazės reagento. Palaukite 3–5 minutes, kol įvyks spalvinė reakcija.

b. NO₃, NO₂

Į NO₃ ir NO₂ šulinėlius įlašinkite po 1 lašą 0,8 % sulfanilo rūgšties ir 1 lašą 0,5 % N,N-dimetil-α-naftilamino. Palaukite 3–5 minutes, kol įvyks spalvinė reakcija.

c. IND

Į IND šulinėlį įlašinkite po 1–2 lašus HNID indolo reagento. Spalva atsiranda iš karto.

C. Interpretuokite reakcijas remdamiesi biocheminio interpretavimo lentele ir įrašykite rezultatus į pridėtą darbų lapą, arba įveskite teigiamas reakcijas „touchSCAN“ skaitytuvu.

1 lentelė. Substratai

Substratai	Santr.	Substratai	Santr.
Indoksilo fosfatas	IDX	Šlapalas	URE
Nitratas	NO ₃	Ornitas	ORN

*Amerikos kultūrų tipų kolekcija, Manasas, VA USA

Substratai	Santr.	Substratai	Santr.
Nitritai	NO ₂	Indolas	IND
Gliukozė	GLU	L-prolil-β-naftilamidas	PRO
Sacharozė	SUC	N-γ-L-glutamil-β-naftilamidas	NGL
Maltozė	MAL	N-α-benzoil-DL-Arginin-β-naftilamidas	ZAR
Fruktozė	FRU	p-Nitrofenil-α-D-gliukozidas	AGL
Laktozė	LAC	Kraskmolos	STA
o-nitrofenil-β-D-galaktozidas	GAL	β-laktamazė (penicilinas)	BL

7. „autoSCAN-4“ plokštelių nuskaitymas

- Po 4 valandų inkubacijos 35–37 °C temperatūroje padenkite GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA ir BL mineraline alyva prieš pridėdami reagentus.
- Pridėkite reagentus šia tvarka:
 - PRO, NGL, ZAR
Į PRO, NGL ir ZAR šulinėlius įlašinkite po 1 lašą peptidazės reagento. Palaukite 3–5 minutes, kol įvyks spalvinė reakcija.
 - NO₃, NO₂
Į NO₃ ir NO₂ šulinėlius įlašinkite po 1 lašą 0,8 % sulfanilo rūgšties ir 1 lašą 0,5 % N,N-dimetil-α-naftilamino. Palaukite 3–5 minutes, kol įvyks spalvinė reakcija.
 - IND
Į IND šulinėlį įlašinkite po 1–2 lašus HNID indolo reagento. Spalva atsiranda iš karto.
- Kai po atitinkamo laiko įvyks visos reakcijos, įdėkite plokštelę į „autoSCAN-4“ nuskaityti.

8. „WalkAway“ sistemų plokštelių nuskaitymas

- Po 4 valandų inkubacijos pirmiausia nuskaityti tie tyrimai, kuriems nereikia pridėti reagentų (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA ir BL).
- Tuomet „WalkAway“ pridėda atitinkamų reagentų į šiuos tyrimus: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ ir IND. Tada interpretuojamos šios reakcijos.

PASTABA: „WalkAway“ pirmiausiai nuskaityti tuos šulinėlius, kuriems nereikia reagentų, kad rezultatai nepakistų dėl reagentų garų, galinčių likti po dėklo dangteliu. Dėl šios priežasties biochemikalų negalima patikrinti rankiniu būdu.

REZULTATAI

2 lentelė

Biocheminio interpretavimo lentelė			
Well	Teigiamas	Neigiamas	Pastabos
IDX	Nuo mėlynų iki pilkų nuosėdų	Skaidrus	
NO ₃	Rožinė, nuo raudonos iki rausvos	Nuo skaidrios iki geltonos	Rezultatai užrašomi praėjus 3–5 minutėms.
NO ₂	Nuo skaidrios iki geltonos	Rožinė, nuo raudonos iki rausvos	Rezultatai užrašomi praėjus 3–5 minutėms.
GLU SUC LAC	Nuo oranžinės iki geltonos	Nuo raudonos iki raudonos / oranžinės	Bet kokia raudona spalva turi būti įrašyta kaip neigiamas rezultatas.
FRU	Nuo geltonos iki geltonos / oranžinės	Nuo raudonos iki oranžinės	Bet kokia geltona spalva turi būti įrašyta kaip teigiamas rezultatas.
MAL	Geltona	Nuo raudonos iki geltonos / oranžinės	
GAL	Geltona	Skaidrus	Blankiai geltona yra teigiamas rezultatas. Kaip neigiamą kontrolinę medžiagą prieš pridėdami reagento naudokite IND šulinėlį.
URE	Nuo raudonos iki rausvos	Nuo geltonos iki šviesiai rožinės	
ORN	Nuo žalios iki mėlynos	Nuo geltonos iki geltonos / žalios	Bet kokia geltona spalva turi būti įrašyta kaip neigiamas rezultatas.
IND	Raudonas žiedas	Geltona	Bet kokia raudona spalva turi būti įrašyta kaip teigiamas rezultatas.
PRO NGL ZAR	Nuo raudonos iki rausvos	Nuo geltonos iki oranžinės	Rezultatus reikia užrašyti per 3–5 minutes. Silpną ZAR reakciją parodo drumzlina išvaizda.

Biocheminio interpretavimo lentelė

Well	Teigiamas	Neigiamas	Pastabos
AGL	Geltona	Skaidrus	Bet kokia geltona spalva turi būti įrašyta kaip teigiamas rezultatas. Kaip neigiamą kontrolinę medžiagą prieš pridėdami reagento naudokite IND šulinėlį.
STA BL	Nuo geltonos iki geltonos / oranžinės	Nuo raudonos iki oranžinės	Bet kokia geltona spalva turėtų būti vertinama kaip teigiamas rezultatas.
LOC	Skirtas „autoSCAN-4“ ir „WalkAway“ sistemos plokštelėms lygiuoti		

Reakcijos

Indoksilo fosfatazė (IDX) – šarminė fosfatazė skaido indoksilo fosfatą į laisvąjį indoksilą, kuris susijungia su molekuliniais deguonimi, sudarydamas netirpų mėlyną junginį.

Nitratas (NO₃) – mikroorganizmo gebėjimas redukuoti nitratą į nitritą aptinkamas pridėjus sulfanilo rūgšties ir N,N-dimetil-alfa-naftilamino, kurie esant nitrito išskiria raudoną spalvą.

Nitritas (NO₂) – mikroorganizmo gebėjimas redukuoti nitritus į laisvasias azoto dujas aptinkamas pridėjus sulfanilo rūgšties ir N,N-dimetil-α-naftilamino. Jei yra nitrito, atsiranda raudona spalva, kuri yra neigiamo tyrimo rezultato požymis. Jei neatsiranda jokios spalvos, vadinasi, nitritas buvo redukuotas ir tyrimo rezultatas yra teigiamas.

Angliavandenių sunaudojimas (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) – kai naudojamas specifinis angliavandenis, susidaro rūgštis ir fenolio raudonojo indikatorius parodo pH sumažėjimą.

β-galaktozidazė (GAL) – β-galaktozidazė hidrolizuoja o-nitrofenil-β-D-galaktopiranozidą, kuris atpalaiduoja geltonos spalvos o-nitrofenolį.

α-gliukozidazė (AGL) – α-gliukozidazė hidrolizuoja p-nitrofenil-α-D-gliukozidą, kuris atpalaiduoja geltonos spalvos p-nitrofenolį.

Šlapalas (URE) – fermentas ureazė skaido šlapalą sudarydamas amoniaką ir fenolio raudonojo indikatorius parodo pH padidėjimą.

Ornitas (ORN) – ornitino dekarboksilinimas nulemia terpės šarmėjimą, kuris aptinkamas bromtimolio mėlynojo pH indikatoriumi.

Indolas (IND) – triptofano metabolizmo rezultatas – indolo susiformavimas, kuris aptinkamas pridėjus HNID indolo reagento. Jei yra indolo, susidaro raudonas žiedas.

Peptidazės (PRO, NGL, ZAR) – mikroorganizmo gebėjimas gaminti specifinį peptidazės fermentą nustatomas, atskiriant atitinkamą amino rūgštį nuo jos jungties su β-naftilamidu. Laisvasis β-naftilamidas aptinkamas sudarant kompleksą su p-dimetilaminocinamaldehydu, kuris išskiria nuo raudonos iki rausvos kintančią spalvą.

β-laktamazė (BL) – β-laktamazė skaido peniciliną G į penicilino rūgštį. pH pokytis aptinkamas fenolio raudonojo indikatoriumi.

Mikroorganizmo identifikavimas

„MicroScan“ HNID biotipų kodų knygelė naudojama nežinomiems tiriamiesiems mikroorganizmams identifiкуoti. Ši kodų knygelė sugeneruota iš „MicroScan“ duomenų bazės, kurioje laikoma iš HNID plokštelėje atliktų tyrimų sukaupta informacija.

Biotipų kodų knygelė leidžia atlikti 17 tyrimų kompiuterinę analizę, siekiant identifiкуoti nežinomus mikroorganizmus. Šie tyrimai paverčiami 6 skaitmenų „biotipo numeriu“, pagal kurį kodų knygelėje nurodomi identifiкуoti mikroorganizmai ir jų santykinės tikimybės. Apie biotipo numerio sudarymo procedūrą skaitykite HNID biotipų kodų knygelėje. Kai pagal biotipo numerį pateikiamas tik vienas mikroorganizmas, santykinė tikimybė yra 99,9 %. Jei pagal tam tikrą biotipo numerį pateikiama daugiau, nei viena identifiкуota rūšis, spausdinamos visos tikėtinos rūšys tvarka nuo didžiausios tikimybės iki suminės bendros 99,9 % tikimybės.

Jei gaunamas biotipo numeris, kurio nėra kodų knygelėje, rekomenduojame pakartoti tyrimą su šviežia kultūra. Jei pakartotinai atlikus tyrimą gaunami tie patys rezultatai, kreipkitės į biotipų paieškos tarnybą „Beckman Coulter“ interneto svetainėje arba į vietinį platintoją.

METODO APRIBOJIMAS

1. Jei pateikta daugiau nei viena tam tikro biotipo numerio rūšies identifiкуacija, siekiant teisingai identifiкуoti gali reikėti papildomų tyrimų. Taip pat reikia atlikti kitų kriterijų, pavyzdžiui, X ir V faktoriaus ir oro toleravimo, tyrimus.
2. Tirti galima tik *Haemophilus* rūšis, *Neisseria* rūšis, *Branhamella catarrhalis* ir *Gardnerella vaginalis* – nenaudokite šio produkto su kitais kokobakterijų mikroorganizmais.
3. Tyrimo rezultatų interpretavimą turi atlikti išmokytas klinikos personalas, kuris prieš patvirtindamas mikroorganizmo identifiкуaciją, turi atsižvelgti į savo nuomonę, žinias ir papildomus patvirtinimo tyrimus. Žr. išnašas, pateiktas HNID biotipų kodų knygelėje arba mikrobiologijos informaciniame vadove.
4. Biotipų numerių negalima naudoti iš atskirų to paties paciento mėginių išskirtų padermių fenotipui identifiкуoti.
5. CLSI rekomendacijose M7-A7, 26 tomas, Nr. 2, rekomenduojama atlikti nitrocefino pagrindo β-laktamazės tyrimą, kai tiriamas mikroorganizmas *Branhamella catarrhalis*.¹⁷

6. *Haemophilus* rūšių biotipo grupės nekoreliuoja su serotipais, t. y. *Haemophilus influenzae* II nebūtinai yra B grupė. Būtina nustatyti serotipą.
7. Kartais kai kurios *N. meningitidis* padermės negamina rūgšties iš maltozės. Šios padermės gali būti neteisingai identifiкуotos kaip *N. gonorrhoeae*, jei NGL taip pat yra neigiamas. Žr. išnašas, pateiktas HNID biotipų kodų knygelėje arba mikrobiologijos informaciniame vadove.
8. Šokolado agare užauginti *H. haemolyticus* izoliatai gali būti klaidingai identifiкуoti kaip *H. influenzae*. Siekiant atskirti *H. haemolyticus* nuo *H. influenzae*, galima atlikti arklio kraujo agaro hemolizę.

NUMATOMOS VERTĖS

Kiekvienos tyrimo ir rūšies tikėtinus rezultatus žr. HNID teigiamos reakcijos procentinių tikimybių lentelėje. (Žr. 3 lentelę.)

3 lentelė																	
Tikimybių lentelė																	
HNID teigiamų reakcijų procentinis kiekis ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus</i> / <i>paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Neisseria</i> rūšys	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Šioje lentelėje nurodytos teigiamų reakcijų interpretavimo reikšmės yra ne faktiniai procentiniai dydžiai, o skelbiamais duomenimis ir „MicroScan“ rezultatais paremta analizė.
2. *Haemophilus influenzae* VI-1 yra Oberhofer biotipų klasifikacijai priklausantis biotipas. *Haemophilus influenzae* VI-2 yra Kilian biotipų klasifikacijai priklausantis VI biotipas.¹⁸

Tikėtinos reakcijos išreikštos devyniomis vertėmis.					
Vertė	Reikšmė	Vertė	Reikšmė	Vertė	Reikšmė
1	Teig. reakcija labai reta	25	Dauguma reakcijų neigiamos	90	Neig. reakcija nedažna
5	Teig. reakcija reta	50	Teig. arba neig. reakcija	95	Neig. reakcija reta
10	Teig. reakcija nedažna	75	Dauguma reakcijų teigiamos	99	Neig. reakcija labai reta

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kultūros grynumą reikia tikrinti išauginant pasėlį iš inokulianto suspensijos tinkamoje agaro terpėje. Tyrimo rezultatai negalioja, jei aptinkama mišri kultūra. Identifikavimo terpės priimtinumą galima patikrinti, tiriant toliau nurodytas padermes (4 lentelė).

4 lentelė

Kokybės kontrolės lentelė

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

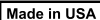
1. Teigiamą rezultatą galima gauti naudojant *Neisseria mucosa*, ATCC 49233.
2. Teigiamą rezultatą galima gauti naudojant *Stenotrophomonas maltophilia*, ATCC 49130.
3. Teigiamą rezultatą galima gauti naudojant *Gardnerella vaginalis*, ATCC 49145.

PRANEŠIMAS DĖL GARANTIJOS

Sistamai taikomos garantijos sąlygos, įtrauktos į sistemos arba jos reagentų sutartį. Už įprastines profilaktinės priežiūros procedūras atsakingas klientas. Jeigu nurodytais laiko intervalais neatlikus šių priežiūros procedūrų sistemą reikėtų taisyti, tokius remonto darbus „Beckman Coulter“ atlieka savo nuožiūra ir kliento sąskaita.

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių sutartiniai ženklai			
Simbolis	Simbolio pavadinimas	Standarto aprašas	Etaloninė medžiaga
	Nenaudoti pakartotinai	Nurodoma, kad medicinos prietaisas skirtas naudoti tik vieną kartą arba naudoti tik vienam pacientui vienos procedūros metu.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Sunaudoti iki nurodytos datos	Nurodoma data, po kurios medicinos prietaiso nebegalima naudoti.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Partijos kodas	Nurodomas gamintojo serijos kodas, kad būtų galima identifikuoti seriją arba partiją.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Katalogo numeris	Nurodomas gamintojo katalogo numeris, kad būtų galima identifikuoti medicinos prietaisą.	ISO 15223-1, 5.1.6 skyrius
	Gamintojas	Nurodomas medicinos prietaiso gamintojas, kaip apibrėžiama ES direktyvose 90/385/EEB, 93/42/EEB ir 98/79/EB.	ISO 15223-1, 5.1.1 skyrius
	Pagaminimo data	Nurodoma medicinos prietaiso pagaminimo data.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Įgaliotas atstovas Europos Bendrijoje	Nurodomas įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje.	ISO 15223-1, 5.1.2 skyrius
	Turinio pakanka <n> tyrimų	Nurodoma, kiek iš viso IVD tyrimų galima atlikti naudojant IVD. (Dažniausiai nurodoma ant reagentų rinkinių.)	ISO 15223-1; 5.5.5
	In vitro diagnostikos medicinos prietaisas	Šiuo simboliu žymimas medicinos prietaisas, skirtas naudoti tik kaip in vitro diagnostikos medicinos prietaisas.	ISO 15223-1, 5.5.1 skyrius

Simbolių sutartiniai ženklai			
Simbolis	Simbolio pavadinimas	Standarto aprašas	Etaloninė medžiaga
	Temperatūros ribojimai	Nurodomos medicinos prietaisui saugios temperatūros ribos.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Skaitykite naudojimo instrukciją	Nurodoma, kad naudotojas turi skaityti naudojimo instrukcijoje pateikiamą informaciją.	ISO 15223-1; 5.4.3
	CE ženklas	Europos direktyvų atitikties reguliacinis ženklas	netaikoma
	Rinkinio sudėtis	netaikoma	netaikoma
	Turinys (pakuotė)	Antimikrobinė medžiaga (santrumpa)	netaikoma
	Turinys (pakuotė)	Identifikavimo substratas (santrumpa)	netaikoma
	Saugos duomenų lapas	Nurodomas saugos duomenų lapas.	netaikoma
	Made in USA	netaikoma	netaikoma
	Tik eksportui	netaikoma	netaikoma
	Paruošimo tūris	netaikoma	netaikoma
	Trapus, elgtis atsargiai	Nurodoma, kad nerūpestingai elgiantis medicinos prietaisas gali sulūžti arba sugesti.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Šia kryptimi į viršų	Nurodoma tinkama stačia padėtis	ISO 7000: 0623
„ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements“ (ISO 15223-1: Medicinos priemonės. Medicinos priemonių etiketėse, ženklinimo ir teiktinoje informacijoje vartotini simboliai. 1 dalis. Bendrieji reikalavimai).			

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

MicroScan

HNID eljárási kézikönyv

REF B1012-10B

RENDELTESSZERŰ HASZNÁLAT

A HNID rendszert a *Neisseria* fajok, *Haemophilus* fajok, valamint a *Branhamella catarrhalis* és *Gardnerella vaginalis* gyors azonosítására és a β -laktamáz termelés kimutatására tervezték. A *Haemophilus influenzae* és *Haemophilus parainfluenzae* biotipizálása is lehetséges.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS ELVEK

Használjon módosított hagyományos és kromogén teszteket a kényes Gram-negatív coccusok és bacillusok azonosítására.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} A tesztelni kívánt organizmus 3 McFarland értékű szuszpenziója speciális inokuláló tápoldatban készül. Rehidratálja, inokulálja és inkubálja 4 órán át a HNID panelt. Inkubálást követően a pH-változások, illetve bizonyos szubsztrátok hasznosítása vagy egyéb biokémiai reakciók értelmezése alapján történik az azonosítás. A β -laktamáz enzim kimutatására egy gyors acidometriás módszer használatos.^{13,14,15}

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

A HNID panelek és reagensek kizárólag *in vitro* diagnosztikai használatra szolgálnak. Ügyeljen rá, hogy a peptidáz reagens és a HNID indolreagens ne kerüljön szembe, bőrre vagy ruházatra. A teljes eljárás során aszeptikus technikát kell alkalmazni, és be kell tartani a mikrobiológiai veszélyek ellen bevezetett óvintézkedéseket, mindig szem előtt tartva, hogy a beoltott panelek potenciálisan kórokozó mikroorganizmusokat tartalmaznak.

TÁROLÁS

2–8 °C-on tárolja. Ne használja a panelt, ha a HNID inokuláló tápoldattal történő rehidráció után bármilyen pozitív reakciót észlel. Pozitív színreakció esetén hivatkozzon a biokémiai értelmező diagramra.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva.



A biztonsági adatlap megtalálható a következő internetes helyen:
techdocs.beckmancoulter.com

MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

A mintavételt és a minták elsődleges izoláló táptalajra helyezését a *Manual of Clinical Microbiology (Klinikai mikrobiológiai kézikönyv)* című kiadványban ajánlott eljárások szerint kell végezni.¹⁶

SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

HNID panel (B1012-10B)

Az eljárás útmutatója

HNID biotípus kódgyűjtemény

Munkalap

SZÜKSÉGES, DE NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

HNID inokuláló tápoldat (B1015-16)

Peptidáz reagens (B1012-30B)

Fedőtálca (B1010-56B)

Ásványolaj, 60 mL (B1010-40)

Ásványolaj, 250 mL (B1010-40A) – KIZÁRÓLAG WalkAway SI berendezésekhez (valamint az automatikus olaj-felülrétegzés funkcióval frissített WalkAway berendezésekhez)

0,5% N,N-Dimetil- α -naftilamin (B1010-45A)

HNID indolreagens (B1015-15)

0,8% szulfanilsav (B1010-44A)

50 μ L-es pipettázó steril hegyekkel

Steril fa vattapálca vagy steril oltókacs

3 McFarland értékű bárium-szulfát turbiditási standard

4 McFarland értékű bárium-szulfát turbiditási standard

Vortex keverő

35–37 °C-os, CO₂-mentes inkubátor

Minőség-ellenőrzési mikroorganizmusok:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

ELJÁRÁS

1. Panel előkészítése

Vegye ki a hűtőből a panelt, és **azonnal** távolítsa el a védőfóliát. **Ne használjon olyan paneleket, amelyek mellett nincs vagy tönkrement a szárítószersz, vagy ha a csomagolásuk sérült (fel van bontva, ki van szúrva vagy elszakadt).** Használat előtt hagyja a panelt és a HNID inokuláló tápoldatot szobahőmérsékletűre melegedni. A panelek egymásra helyezhetők; a legfelső panelre tiszta fedőtálcát kell helyezni.

2. A mikroorganizmusok előkészítése

Steril vattapálca vagy steril oltókacs segítségével vigyen át megfelelő mennyiségű, hasonló morfológiájú telepeket egy 18–24 órás primer izolálólemezről (vér, csokoládé, GV vagy Thayer Martin agar) 3 McFarland értékű bárium-szulfát turbiditási standardnak megfelelő HNID inokuláló tápoldatba. *Neisseria* fajok esetén 4 McFarland értékű bárium-szulfát turbiditási standardot kell használni. Vortexelje az inokuláló tápoldatot a panel inokulálása előtt. Ne használjon kevesebb mint 3 McFarland értékű bárium-szulfát turbiditási standardot a HNID panelek inokulálásához.

3. Inokulálás

Mérjen 50 µL (0,05 mL) inokuláló tápoldatot a HNID panel minden megjelölt cellájába. Használjon 50 µL-es pipettázót steril hegygel. A tisztaság ellenőrzése érdekében a MicroScan azt javasolja, hogy a panelek inokulációját követően a megmaradt inokuláló tápoldat 1 cseppjét tenyessze a megfelelő táptalajon.

MEGJEGYZÉS: Az autoSCAN-4 és WalkAway rendszerek használatakor a LOC cellát is rehidratálni kell.

4. Biokémiai olaj-fedőrétegek

Csepegtető üveg segítségével 2–3 csepp ásványolajjal fedje be az URE cellát. A cellában lévő tápoldatot teljesen fedje be, de ne töltse túl a cellát.

MEGJEGYZÉS: A WalkAway SI berendezések (valamint az automatikus olaj-felülrétegzés funkcióval frissített WalkAway berendezések) automatikusan olajat adagolnak az URE cellába.

5. Inkubálás

Az inokulált paneleket 4 órán át kell inkubálni 35–37 °C-on, CO₂-mentes inkubátorban. Pakoljon egymásra 4–5 darab panelt, és a legfelsőre helyezzen fedőtálcát, hogy megakadályozza a párolgást.

6. Vizuális leolvasás vagy a touchSCAN panel leolvasása

A. 4 órás, 35–37 °C-on történő inkubálást követően azokat a tesztekkel kell először leolvasni, amelyek nem igénylik további reagens hozzáadását (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA és BL).

B. Adja hozzá az alábbi reagenseket:

a. PRO, NGL, ZAR

Adjon 1 csepp peptidáz reagenst a PRO, NGL és ZAR cellákhoz. Várjon 3–5 percet a színreakció lejátszódásához.

b. NO₃, NO₂

Adjon az NO₃ és NO₂ cellákhoz 1 csepp 0,8%-os szulfanilsavat, majd 1 csepp 0,5%-os N,N-Dimetil-α-naftilamint. Várjon 3–5 percet a színreakció lejátszódásához.

c. IND

Adjon 1–2 csepp HNID indolreagenst az IND cellához. A szín azonnal megjelenik.

C. A reakciókat a biokémiai értelmező diagram alapján értelmezze, és a mellékelt munkalapon jegyezze fel az eredményeket, vagy vigye be a pozitív reakciókat a touchSCAN leolvasón keresztül.

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

1. táblázat, Szubsztrátok

Szubsztrátok	Röv.	Szubsztrátok	Röv.
Indoxil-foszfát	IDX	Urea	URE
Nitrát	NO ₃	Ornitin	ORN
Nitrit	NO ₂	Indol	IND
Glükóz	GLU	L-prolil-β-naftilamid	PRO
Szacharóz	SUC	N-γ-L-glutamil-β-naftilamid	NGL
Maltóz	MAL	N-α-benzoil-DL-Arginin-β-naftilamid	ZAR
Fruktóz	FRU	p-nitrofenil-α-D-glükózid	AGL
Laktóz	LAC	Keményítő	STA
o-nitrofenil-β-D-galaktozid	GAL	β-laktamáz (Penicillin)	BL

7. Az autoSCAN-4 panel leolvasása

- 4 órás, 35–37 °C-on történő inkubálást követően fedje le a GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA és BL cellákat ásványolajjal a reagensek hozzáadása előtt.
- Adja hozzá az alábbi reagenseket:
 - PRO, NGL, ZAR
Adjon 1 csepp peptidáz reagenst a PRO, NGL és ZAR cellákhoz. Várjon 3–5 percet a színreakció lejátszódásához.
 - NO₃, NO₂
Adjon az NO₃ és NO₂ cellákhoz 1 csepp 0,8%-os szulfanilsavat, majd 1 csepp 0,5%-os N,N-Dimetil-α-naftilamint. Várjon 3–5 percet a színreakció lejátszódásához.
 - IND
Adjon 1–2 csepp HNID indolreagenst az IND cellához. A szín azonnal megjelenik.
- Miután minden reakció a megfelelő idő alatt lezajlott, helyezze be a panelt az autoSCAN-4 készülékbe leolvasásra.

8. WalkAway rendszerek paneljeinek leolvasása

- 4 órás inkubálást követően azok a tesztek kerülnek először leolvasásra, amelyek nem igénylik további reagens hozzáadását (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA és BL).
- A WalkAway ezután hozzáadja a megfelelő reagenst a következőkhöz: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ és IND. Ezután a reakciók kiértékelhetők.

MEGJEGYZÉS: A WalkAway azokat a cellákat olvassa le először, amelyek nem igényelnek reagenst, hogy megelőzze az eredmények módosulását a tálcafedél alatt rekedt reagensgőzök miatt. Ezért a biokémiai anyagok nem ellenőrizhetők manuálisan.

EREDMÉNYEK

2. táblázat

Biokémiai értelmező diagram			
Well	Pozitív	Negatív	Megjegyzések
IDX	Kék–szürke csapadék	Átlátszó	
NO ₃	Rózsaszín, pirostól magentáig	Áttetszőtől sárgáig	Az eredmények 3–5 perc elteltével értékelhetők.
NO ₂	Áttetszőtől sárgáig	Rózsaszín, pirostól magentáig	Az eredmények 3–5 perc elteltével értékelhetők.
GLU SUC LAC	Narancssárgától sárgáig	Pirostól pirosas narancssárgáig	Bármilyen piros színt negatívnak kell tekinteni.
FRU	Sárga–sárga / narancssárga	Pirostól narancssárgáig	Bármilyen sárga színt pozitívnak kell tekinteni.
MAL	Sárga	Pirostól sárgás narancssárgáig	
GAL	Sárga	Átlátszó	A halványsárga eredmény pozitív. Negatív kontrollként használja az IND cellának a reagens hozzáadása előtti megjelenését.
URE	Pirostól magentáig	Sárgától világos rózsaszínig	
ORN	Zöld-kék	Sárgától sárgászöldig	Bármilyen sárga színt negatívnak kell tekinteni.
IND	Piros gyűrű	Sárga	Bármilyen piros színt pozitívnak kell tekinteni.

Biokémiai értelmező diagram

Well	Pozitív	Negatív	Megjegyzések
PRO NGL ZAR	Pirostól magentáig	Sárga-narancssárga	Az eredmények 3–5 perc elteltével értékelendők. Az opálos megjelenés gyenge ZAR reakcióra utal.
AGL	Sárga	Átlátszó	Bármilyen sárga színt pozitívnak kell tekinteni. Negatív kontrollként használja az IND cellának a reagens hozzáadása előtti megjelenését.
STA BL	Sárga-sárga / narancssárga	Pirostól narancssárgáig	Bármilyen sárga színt pozitívnak kell tekinteni.
LOC	Az autoSCAN-4 és WalkAway rendszer paneljeinek összehangolásához		

Reakciók

Indoxil-foszfátáz (IDX) – Az alkalikus foszfátáz az indoxil-foszfátot hasítja, a felszabaduló indoxil pedig molekuláris oxigénnel kapcsolódva oldhatatlan kék vegyületet képez.

Nitrát (NO₃) – Egy mikroorganizmus azon képessége, hogy képes-e a nitrátot nitráttá redukálni, szulfanilsav és N,N-Dimetil- α -naftilamin hozzáadásával kimutatható, ami nitrit jelenlétében piros színt eredményez.

Nitrit (NO₂) – Egy mikroorganizmus azon képessége, hogy képes-e a nitritet szabad nitrogéngázzá redukálni, szulfanilsav és N,N-Dimetil- α -naftilamin hozzáadásával mutatható ki. Nitrit jelenlétében piros szín alakul ki, ami negatív tesztet jelent. Ha nem alakul ki szín, a nitrit redukálódott, és a teszt pozitív.

Szénhidrát-hasznosítás (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) – Egy bizonyos szénhidrát hasznosítása savképződést eredményez, ami a pH-érték csökkenésével jár; ezt a fenolvörös indikátor jelzi.

β -galaktozidáz (GAL) – A β -galaktozidáz hidrolizálja az o-nitrofenil- β -D-galaktopiranozidot, felszabadítva a sárga színű o-nitrofenolt.

α -glükózidáz (AGL) – Az α -glükózidáz a p-nitrofenil- α -D-glükózidot hidrolizálja, felszabadítva a sárga színű p-nitrofenolt.

Urea (URE) – Az ureáz enzim az ureát hasítja, ammóniát képez, a pH-érték megnő, és ezt a fenolvörös indikátor jelzi.

Ornitin (ORN) – Az ornitin dekarboxilációja a közeg lúgosodásához vezet, ami brómtimolkék pH-indikátorral kimutatható.

Indol (IND) – A triptofán metabolizmusa során indol keletkezik, amely HNID indolreagens hozzáadásával kimutatható. Indol jelenlétében piros gyűrű képződik.

Peptidázok (PRO, NGL, ZAR) – Egy organizmus azon képessége, hogy képes-e specifikus peptidáz enzimeket termelni, meghatározható az alapján, hogy a megfelelő aminosavak és a β -naftilamid közötti kötést hasítja-e. A szabad β -naftilamid kimutatható p-dimetilamino-cinnamaldehyddel komplexálva; a reakció pirostól magentáig terjedő színt eredményez.

β -laktamáz (BL) – A β -laktamáz bontja a penicillin G-t penicilloinsavvá. A pH-változást fenolvörös indikátor jelzi.

Mikroorganizmusok identifikálása

Az ismeretlen vizsgálati mikroorganizmusok azonosításához használja a MicroScan HNID biotípus kódgyűjteményt. Ezt a kódgyűjteményt a MicroScan adatbázisa alapján generálták, amelyet a HNID panelen szereplő tesztek adataiból gyűjtöttek.

A Biotípus kódgyűjteményben található 17 teszt számítógépes elemzése nyújt segítséget az ismeretlen mikroorganizmusok azonosításában. A rendszer a teszteredményeket 6 jegyű „biotípusszámmá” alakítja, amelyhez a kódgyűjtemény listázza a mikroorganizmus-azonosító(ka)t és ezek relatív azonosítási valószínűségét. Biotípusszám létrehozásakor hivatkozzon a HNID biotípus-kódgyűjteményben ismertetett eljárásra. Ha csak egyetlen mikroorganizmus tartozik egy adott biotípusszámmal, a relatív valószínűség 99,9%. Ha egy bizonyos biotípusszámmal egyenlő több faj azonosítása is lehetséges, minden lehetőség megjelenik a legnagyobb valószínűség sorrendjében, az összesített teljes valószínűség 99,9%-áig.

Amennyiben a kódgyűjteményben nem szereplő biotípusszámot észlel, javasoljuk, hogy ismétlje meg a tesztet friss tenyészetből. Ha az újratestelés is ugyanazokat az eredményeket adja, használja a Beckman Coulter honlapján a Biotype Lookup Service (Biotípus-kereső szolgáltatás) funkciót, vagy konzultáljon a területi cégeképvisellel.

A MÓDSZER KORLÁTAI

1. Ha egyenlő több faj azonosítása lenne felsorolva egy adott biotípusszám mellett, kiegészítő vizsgálatokra lehet szükség a helyes azonosítás érdekében. Egyéb kritériumok tesztelését, mint például az X-es és V-ös faktorok, illetve a levegőtolerancia vizsgálatát szintén el kell végezni.
2. Kizárólag *Haemophilus* fajok, *Neisseria* fajok, *Branhamella catarrhalis* és *Gardnerella vaginalis* tesztelésére – ne használja a terméket egyéb coccobacillusokhoz.
3. A teszteredményeket megfelelő gyakorlattal rendelkező klinikai szakembereknek kell értelmezniük, akik ismereteik és szükség esetén további megerősítő tesztek alapján el tudják dönteni, hogy egy adott mikroorganizmus azonosításának eredménye elfogadható-e. Kérjük, tekintse át a HNID biotípus kódgyűjtemény vagy a Mikrobiológiai információs kézikönyv lábjegyzeteit.
4. Egyazon betegről származó különféle mintákból izolált törzsek fenotípus alapján történő azonosításához nem használható a biotípusok száma.

- Az M7-A7 jelű CLSI irányelv, 26. kötet, 2. szám ajánlása szerint a *Branhamella catarrhalis* kimutatására nitrocefinalapú β -laktamáz tesztet kell végezni.¹⁷
- A biotípuscsoportok a *Haemophilus* sp. esetén nem korrelálnak a szerotípusokkal, pl. a *Haemophilus influenzae* II nem feltétlenül a B csoportba tartozik. Szerotipizálás szükséges.
- Esetenként előfordulhat, hogy néhány *N. meningitidis* törzs nem termel savat maltózból. Ezek a törzsek a *N. gonorrhoeae* helytelen azonosítását eredményezik, ha az NGL cella is negatív. Kérjük, tekintse át a HNID biotípus kódgyűjtemény vagy a Mikrobiológiai információk kézikönyv lábjegyzeteit.
- Előfordulhat, hogy a csokoládéagaron nőtt *H. haemolyticus* azonosítása tévesen *H. influenzae* lesz. Lóvéres agaron történő hemolízissel elkülöníthető a *H. haemolyticus* és a *H. influenzae*.

VÁRT ÉRTÉKEK

Minden teszt és minden faj esetén a várható eredményeket a HNID százalékos pozitív reakciók diagramja tartalmazza. (Lásd a 3. táblázatot.)

3. táblázat Valószínűségi diagram HNID százalékos pozitív reakciók ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Neisseria</i> fajok	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. A táblázatban található pozitív reakciók értelmezési értékei nem valódi százalékos értékek, hanem irodalmi adatokon és MicroScan-eredményeken alapuló értékek.

2. A *Haemophilus influenzae* VI-1 az Oberhofer biotípus-osztályozás biotípusa. A *Haemophilus influenzae* VI-2 a Kilian biotípus-osztályozás VI-os biotípusa.¹⁸

A várt reakciók kilenc értékkel fejezhetők ki:					
Érték	Jelentés	Érték	Jelentés	Érték	Jelentés
1	Poz. reakció nagyon ritka	25	A legtöbb reakció negatív	90	Neg. reakció nem jellemző
5	Poz. reakció ritka	50	Poz. vagy neg. reakció	95	Neg. reakció ritka
10	Poz. reakció nem jellemző	75	A legtöbb reakció pozitív	99	Neg. reakció nagyon ritka

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

A tenyészet tisztaságát ellenőrizni kell úgy, hogy az inokuláló szuszpenziót megfelelő agar táptalajon tenyésztjük. Kevert tenyészet esetén a teszteredmények érvénytelenek. Az azonosító tápoldat elfogadhatósága ellenőrizhető az alábbi törzsek tesztelésével: (4. táblázat)

4. táblázat

Minőség-ellenőrzési grafikon

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Pozitív teszteredmény lehetséges a *Neisseria mucosa* ATCC 49233 törzs esetén.

2. Pozitív teszteredmény lehetséges a *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130 törzs esetén.

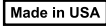
3. Pozitív teszteredmény lehetséges a *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145 törzs esetén.

JÓTÁLLÁSI NYILATKOZAT

A rendszerre, illetve reagenseire a vonatkozó szerződéses megállapodásban szereplő garanciális rendelkezések vonatkoznak. A rutin megelőző karbantartási eljárások elvégzése az ügyfél felelőssége. Az ezen karbantartási eljárások feltüntetett időközönként történő végrehajtásának elmulasztása miatt szükségessé váló javítások elvégzéséről a Beckman Coulter saját belátása szerint dönt; az ilyen javítások költségei az ügyfelet terhelik.

Szimbólumok listája

Szimbólumok listája			
Szimbólum	Szimbólum megnevezése	Standard leírása	Standard
	Ne használja újra	Olyan gyógyászati eszközt jelöl, amely nem használható fel újra, azaz csak egyetlen eljárás során, egyetlen betegen használható.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Lejárat dátum	Azt a dátumot jelöli, amely után a gyógyászati eszköz már nem használható fel.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Tételkód	A tétel vagy a sarzs beazonosítására szolgáló gyártói tételkódot jelöli.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Katalógusszám	A gyógyászati eszköz beazonosítására szolgáló gyártói katalógusszámot jelöli.	ISO 15223-1, 5.1.6-os záradék
	Gyártó	A gyógyászati eszköz gyártóját jelöli a 90/385/EGK, a 93/42/EGK és a 98/79/EK jelű európai uniós irányelveknek megfelelően.	ISO 15223-1, 5.1.1-es záradék
	Gyártás dátuma	A gyógyászati eszköz gyártásának dátumát jelöli.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben	Az Európai Közösségen belüli hivatalos képviselőt jelöli.	ISO 15223-1, 5.1.2-es záradék
	<n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz	Az IVD-eszközzel végrehajtható IVD-tesztek teljes számát jelöli. (A reagenskészletek általában tartalmazzák).	ISO 15223-1; 5.5.5

Szimbólumok listája			
Szimbólum	Szimbólum megnevezése	Standard leírása	Standard
	<i>In vitro</i> diagnosztikai alkalmazásra szolgáló gyógyászati eszköz	Olyan gyógyászati eszközt jelöl, amely <i>in vitro</i> diagnosztikai gyógyászati eszközként alkalmazandó.	ISO 15223-1, 5.5.1-es záradék
	Hőmérséklet-korlátozás	A gyógyászati eszköz számára megfelelő hőmérséklet-tartományt jelöli.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Olvassa el a használati utasítást	Arra utasítja a felhasználót, hogy tekintse át a használati utasítást.	ISO 15223-1; 5.4.3
	CE jelzés	Európai megfelelőségi jelölés	n. a.
	Tartalom	n. a.	n. a.
	Tartalom (csomag)	Antimikrobiális szer (rövidítés)	n. a.
	Tartalom (csomag)	Azonosításhoz használt szubsztrát (rövidítés)	n. a.
	Biztonsági adatlap	Biztonsági adatlap jelölése.	n. a.
	Made in USA	n. a.	n. a.
	Kizárólag exportra szánt termék	n. a.	n. a.
	Feloldási térfogat	n. a.	n. a.
	Törékeny, óvatosan kezelendő	Olyan gyógyászati eszközt jelöl, amely eltörhet vagy károsodhat, ha nem kellő körültekintéssel kezelik.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Felfelé	A megfelelő függőleges helyzetet jelöli	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Orvostechnikai eszközök. Orvostechnikai eszközök címkéin, címkézésén és tájékoztatóiban használandó szimbólumok. 1. rész: Általános követelmények)			

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Egyesült Államokban és más országokban.

MicroScan

Podręcznik procedur HNID

REF B1012-10B

ZASTOSOWANIE

System HNID jest zaprojektowany do szybkiej identyfikacji i wykrywania wytwarzania β -laktamazy u gatunków *Neisseria*, gatunków *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* i *Gardnerella vaginalis*. Można również przeprowadzić biotypowanie *Haemophilus influenzae* i *Haemophilus parainfluenzae*.

OMÓWIENIE I ZASADA DZIAŁANIA

Zmodyfikowane testy konwencjonalne i chromogeniczne służą do identyfikacji Gram-ujemnych ziarniaków i pałeczek o wysokich wymaganiach odżywczych.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Zawiesina 3 McFarlanda badanego drobnoustroju jest wykonywana w specjalnym bulionie inokulacyjnym. Panel HNID jest ponownie uwadniany i inokulowany z bulionu i inkubowany przez 4 godziny. Po inkubacji analizowane są zmiany pH i wykorzystanie pewnych substratów lub inne reakcje biochemiczne w celu identyfikacji. Szybka metoda acydymetryczna służy do wykrywania enzymu β -laktamazy.^{13,14,15}

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Panele i odczynniki HNID są przeznaczone wyłącznie do stosowania w diagnostyce *in vitro*. Nie dopuścić do kontaktu odczynnika peptydazowego ani odczynnika indolowego HNID z oczami, skórą lub odzieżą. Przy wykonywaniu procedury ze szczególnym uwzględnieniem kwestii, że inokulowane panele zawierają potencjalnie chorobotwórcze drobnoustroje, należy stosować techniki aseptyczne i środki ostrożności wymagane podczas pracy z drobnoustrojami potencjalnie patogenymi.

PRZECHOWYWANIE

Przechowywać w temperaturze 2–8°C. Po ponownym nawodnieniu bulionem inokulacyjnym HNID należy odrzucić panel, jeżeli jakkolwiek substrat wydaje się mieć reakcję dodatnią. Dodatkowo reakcje barwne — patrz tabela interpretacji biochemicznej.

KLASYFIKACJA ZAGROZEŃ WG GHS

Substancja niesklasyfikowana jako niebezpieczna



Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie techdocs.beckmancoulter.com

POBIERANIE I PRZYGOTOWY-WANIE PRÓBEK

Próbki są pobierane i umieszczane na podstawowym podłożu selektywnym zgodnie z procedurami laboratoryjnymi jak opisano w dokumentacji *Manual of Clinical Microbiology* (Podręcznik mikrobiologii klinicznej).¹⁶

MATERIAŁY DOSTARCZONE

Panel HNID (B1012-10B)

Procedura ręczna

Książka kodów biotypu HNID

Arkusze robocze

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Bulion inokulacyjny HNID (B1015-16)

Odczynnik peptydazowy (B1012-30B)

Taca pokrywowa (B1010-56B)

Olej mineralny, 60 mL (B1010-40)

Olej mineralny, 250 mL (B1010-40A) — JEDYNI do stosowania z analizatorami WalkAway SI (i analizatorami WalkAway unowocześnionymi o funkcję automatycznego nakładania oleju)

0,5% N,N-dimetylo- α -naftyloamina (B1010-45A)

Odczynnik indolowy HNID (B1015-15)

0,8% kwas sulfanilowy (B1010-44A)

Pipetor 50 μ L z jałowymi końcówkami

Jałowe drewniane wymazówki lub jałowa eża do inokulacji

Wzorzec zmętnienia siarczanu baru 3 w skali McFarlanda

Wzorzec zmętnienia siarczanu baru 4 w skali McFarlanda

Mieszadło wirowe

35–37°C, inkubator bez CO₂

Drobnoustroje do kontroli jakości:

C29877–AB

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCEDURA

1. Przygotowanie paneli

Wyjąć panel z chłodziarki i *natychmiast* wyjąć z torebki foliowej. **Nie należy używać paneli, jeżeli brak jest środka osuszającego lub jest on uszkodzony, bądź opakowanie jest naruszone (niezaklejone, przebite lub rozdarte).** Przed użyciem należy umożliwić panelowi i bulionowi inokulacyjnemu HNID osiągnięcie temperatury pokojowej. Panele można ustawiać jeden na drugim, umieszczając przezroczystą pokrywkę na górze każdego z nich.

2. Przygotowanie drobnoustroju

Wykorzystując jałową wymazówkę lub jałową eżę do inokulacji, przenieść wystarczająco podobne morfologicznie kolonie z 18–24-godzinnej płytki izolacji podstawowej (agar krwawy, czekoladowy, GV lub Thayer Martin) do bulionu inokulacyjnego HNID porównywalnego ze wzorcem zmętnienia siarczanu baru 3 w skali McFarlanda. W przypadku gatunków *Neisseria* pożądanym jest wzorec zmętnienia siarczanu baru 4 w skali McFarlanda. Worteksować bulion inokulacyjny przed inokulowaniem panelu. Do inokulacji paneli HNID nie należy używać wzorca zmętnienia siarczanu baru mniejszego niż 3 w skali McFarlanda.

3. Inokulacja

Przenieść 50 μ L (0,05 mL) bulionu inokulacyjnego do każdej opisanej studzienki panelu HNID. Należy użyć pipetora 50 μ L z jałową końcówką. Po każdej inokulacji panelu firma MicroScan zaleca wykonanie hodowli podrzędnej 1 kropli nadmiaru bulionu inokulacyjnego do odpowiedniego podłoża jako kontrolę czystości.

UWAGA: do stosowania z systemami autoSCAN-4 i WalkAway należy również ponownie uwodnić studzienkę LOC.

4. Nałożenie oleju biochemicznego

Za pomocą zakraplacza pokryć studzienkę URE co najmniej 2–3 kroplami oleju mineralnego. Podłoża w studzienkach powinny być całkowicie przykryte, ale nie powinny być przepełnione.

UWAGA: analizatory WalkAway SI (oraz analizatory WalkAway z dodatkową opcją automatycznego nakładania oleju) automatycznie dodają olej do studzienki URE.

5. Inkubacja

Inkubować inokulowany panel przez 4 godziny w temperaturze 35–37°C w inkubatorze niezawierającym CO₂. Ułożyć pięć paneli w grupach od 4 do 5 z pokrywą tacy na górze panelu, aby zapobiec parowaniu.

6. Odczyt panelu wzrokowo lub przy użyciu czytnika touchSCAN

A. Po 4 godzinach inkubacji w temperaturze 35–37°C testy, które nie wymagają dodawania odczynników (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA i BL) powinny być odczytane jako pierwsze.

B. Dodać odczynniki jak poniżej:

a. PRO, NGL, ZAR

Dodać 1 kroplę odczynnika peptydazowego do studzienek PRO, NGL i ZAR. Umożliwić przebieg reakcji barwnej przez co najmniej 3–5 minut.

b. NO₃, NO₂

Dodać 1 kroplę 0,8% kwasu sulfanilowego i 1 kroplę 0,5% N,N-dimetylo- α -naftyloaminy do studzienek NO₃ i NO₂. Umożliwić przebieg reakcji barwnej przez co najmniej 3–5 minut.

c. IND

Dodać 1–2 krople odczynnika indolowego HNID do studzienki IND. Kolor pojawi się natychmiast.

C. Interpretować reakcje zgodnie z tabelą interpretacji biochemicznej i zapisać wyniki na podanym arkuszu roboczym lub wprowadzić reakcje dodatnie za pośrednictwem czytnika touchSCAN.

Tabela 1, Substraty

Substraty	Skrót	Substraty	Skrót
Fosforan indoksyli	IDX	Mocznik	URE
Azotan	NO ₃	Ornityna	ORN
Azotyny	NO ₂	Indol	IND
Glukoza	GLU	L-prolino-β-naftyloamid	PRO
Sukroza	SUC	N-γ-L-glutamyl-β-naftyloamid	NGL
Maltoza	MAL	N-α-benzoilo-DL-Arginino-β-naftyloamid	ZAR
Fruktoza	FRU	p-nitrofenylo-α-D-glukozyd	AGL
Laktoza	LAC	skrobia	STA
o-nitrofenylo-β-D-galaktozyd	GAL	β-laktamaza (penicylina)	BL

7. Odczyt panelu autoSCAN-4

- A. Po 4 godzinach inkubacji w temperaturze 35–37°C — przed dodaniem odczynników — nałożyć olej mineralny na GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA i BL.
- B. Dodać odczynniki jak poniżej:
 - a. PRO, NGL, ZAR
Dodać 1 kroplę odczynnika peptydazowego do studzienek PRO, NGL i ZAR. Umożliwić przebieg reakcji barwnej przez co najmniej 3–5 minut.
 - b. NO₃, NO₂
Dodać 1 kroplę 0,8% kwasu sulfanilowego i 1 kroplę 0,5% N,N-dimetylo-α-naftyloaminy do studzienek NO₃ i NO₂. Umożliwić przebieg reakcji barwnej przez co najmniej 3–5 minut.
 - c. IND
Dodać 1–2 krople odczynnika indolowego HNID do studzienki IND. Kolor pojawi się natychmiast.
- C. Po zakończeniu każdej reakcji przez odpowiedni czas umieścić panel w systemie autoSCAN-4 w celu odczytu.

8. Odczyt paneli systemów WalkAway

- A. Po 4 godzinach inkubacji testy, które nie wymagają dodawania odczynników (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA i BL) są odczytywane jako pierwsze.
- B. Następnie system WalkAway dodaje odpowiednie odczynniki do następujących studzienek: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ i IND. Następnie reakcje te są interpretowane.

UWAGA: analizator WalkAway odczytuje najpierw studzienki, które nie wymagają odczynników, aby zapobiec zaburzonym wynikom z powodu dymów odczynnika, które mogą być uwięzione pod pokrywą tacy. Dlatego reakcje biochemiczne nie mogą być weryfikowane ręcznie.

WYNIKI**Tabela 2**

Tabela interpretacji biochemicznej			
Well	Dodatni	Ujemny	Uwagi:
IDX	Niebieski do szarego osadu	Przezroczysty	
NO ₃	Różowy, czerwony do karminowego	Przezroczysty do żółtego	Wyniki zarejestrowane po 3–5 minutach.
NO ₂	Przezroczysty do żółtego	Różowy, czerwony do karminowego	Wyniki zarejestrowane po 3–5 minutach.
GLU SUC LAC	Pomarańczowy do żółtego	Czerwony do czerwonego / pomarańczowego	Jakikolwiek czerwony kolor należy zarejestrować jako ujemny.
FRU	Od żółtego do żółtopomarańczowego	Czerwony do pomarańczowego	Jakikolwiek żółty kolor należy zarejestrować jako dodatni.
MAL	Żółty	Czerwony do żółtego/pomarańczowego	
GAL	Żółty	Przezroczysty	Bladożółty jest dodatni. Użyć studzienki IND przed dodaniem odczynnika jako kontroli ujemnej.
URE	Czerwony do karminowego	Żółty do jasnoróżowego	
ORN	Od zielonego do niebieskiego	Żółty do żółtego/zielonego	Jakikolwiek żółty kolor należy zarejestrować jako ujemny.

Tabela interpretacji biochemicznej

Well	Dodatni	Ujemny	Uwagi:
IND	Czerwony pierścień	Żółty	Jakikolwiek czerwony kolor należy zarejestrować jako dodatni.
PRO NGL ZAR	Czerwony do karminowego	Od żółtego do pomarańczowego	Wyniki należy zarejestrować po 3–5 minutach. Słaba reakcja ZAR jest wskazana przez mętny wygląd.
AGL	Żółty	Przezroczysty	Jakikolwiek żółty kolor należy zarejestrować jako dodatni. Użyć studzienki IND przed dodaniem odczynnika jako kontroli ujemnej.
STA BL	Od żółtego do żółtopomarańczowego	Czerwony do pomarańczowego	Jakikolwiek żółty kolor należy uznać jako dodatni.
LOC	W przypadku dopasowania paneli systemów autoSCAN-4 i WalkAway		

Reakcje

Fosfataza indoksylova (IDX) — fosfataza alkaliczna rozszczepia fosforan indoksyłu na wolny indoksył, który łączy się z tlenem cząsteczkowym tworząc nierozpuszczalny niebieski związek.

Azotan (NO₃) — zdolność drobnoustroju do redukcji azotanu do azotynu jest wykrywana poprzez dodanie kwasu sulfanilowego i N,N-dimetylo- α -naftyloaminy, co powoduje czerwone zabarwienie w obecności azotynu.

Azotyn (NO₂) — zdolność drobnoustroju do redukcji azotynu do wolnego gazowego azotu jest wykrywana przez dodanie kwasu sulfanilowego i N,N-dimetylo- α -naftyloaminy. W obecności azotynu pojawia się kolor czerwony, który jest testem ujemnym. Jeżeli nie pojawia się kolor, azotyn został zredukowany i test jest testem dodatnim.

Wykorzystanie węglowodanów (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) — wykorzystanie określonego węglowodanu powoduje tworzenie kwasu ze znacznym spadkiem pH wskazanym przez wskaźnik czerwieni fenolowej.

β -galaktozydaza (GAL) — β -galaktozydaza hydrolizuje o-nitrofenylo- β -D-galaktopiranozyd, który uwalnia zabarwiony na żółto o-nitrofenol.

A-glukozydaza (AGL) — α -glukozydaza hydrolizuje p-nitrofenylo- α -D-glukozyd, który uwalnia zabarwiony na żółto p-nitrofenol.

Mocznik (URE) — enzym ureaza rozszczepia mocznik tworząc amoniak i powodując wzrost pH wykrywany przez wskaźnik czerwieni fenolową.

Ornityna (ORN) — dekarboksylacja ornityny powoduje alkalizację podłoża, co jest wykrywane przy użyciu wskaźnika pH, błękitu bromotymolowego.

Indol (IND) — metabolizm tryptofanu powoduje powstanie indolu, który jest wykrywany przez dodanie odczynnika indolowego HNID. Jeżeli obecny jest indol, powstaje czerwony pierścień.

Peptydazy (PRO, NGL, ZAR) — zdolność drobnoustroju do wytwarzania określonego enzymu peptydazy jest określana przez odszczepienie odpowiedniego aminokwasu od jego wiązania z β -naftyloamidem. Wolny β -naftyloamid jest następnie wykrywany przez kompleksowanie z aldehydem p-dimetyloaminocynamonowym dającym kolor czerwony do karminowego.

β -laktamaza (BL) — penicylina G jest rozkładana przez β -laktamazę do kwasu penicyloilowego. Przesunięcie pH jest wykrywane przez wskaźnik czerwieni fenolową.

Identyfikacja drobnoustroju

Książka kodów biotypu MicroScan HNID służy do identyfikacji nieznanymi drobnoustrojów badanych. Ta książka kodów została wygenerowana z bazy danych MicroScan informacji skompilowanych z testów na panelu HNID.

Książka kodów biotypu zapewnia analizę komputerową 17 testów w celu identyfikacji nieznanymi drobnoustrojów. Testy te są tłumaczone na 6-cyfrowy „numer biotypu”, dla którego książka kodów podaje identyfikację drobnoustroju i prawdopodobieństwo pokrewieństwa. Procedura generowania numeru biotypu — patrz książka kodów biotypu HNID. Gdy w przypadku numeru biotypu wystawiany jest tylko jeden drobnoustrój, względne prawdopodobieństwo wynosi 99,9%. Jeżeli dla określonego numeru biotypu możliwa jest identyfikacja więcej niż jednego gatunku, wszystkie możliwości są drukowane w kolejności najwyższego prawdopodobieństwa do sumarycznego całkowitego prawdopodobieństwa 99,9%.

W przypadku wystąpienia numeru biotypu, którego nie ma w książce kodów, sugerowane jest powtórzenie testu ze świeżej hodowli. Jeżeli ponowne oznaczenia prowadzą do tych samych wyników, należy skonsultować się z serwisem Biotype Lookup (Wyszukiwanie biotypu) dostępnym na stronie internetowej Beckman Coulter lub z lokalnym dystrybutorem.

OGRANICZENIA METODY

- Jeżeli dla określonego numeru biotypu ma zostać wystawiona identyfikacja więcej niż jednego gatunku, do prawidłowej identyfikacji mogą być konieczne testy uzupełniające. Należy również przeprowadzić badanie pod kątem innych kryteriów, takich jak czynniki X i V oraz tolerancja tlenu.
- Można zbadać wyłącznie gatunki *Haemophilus*, gatunki *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* i *Gardnerella vaginalis* — nie należy używać tego produktu do innych drobnoustrojów ziarniako-pałeczkowatych.

- Przed zaakceptowaniem identyfikacji wyniki testu drobnoustroju powinien interpretować wykwalifikowany personel kliniczny na podstawie własnych opinii, wiedzy i wyników ewentualnych dodatkowych badań. Zapoznać się z przypisami w książce kodów biotypu HNID lub instrukcji informacji mikrobiologicznej.
- Numery biotypu nie powinny być używane do identyfikacji fenotypowej szczepów izolowanych z różnych próbek pobieranych od tego samego pacjenta.
- Wytyczne M7-A7 CLSI, tom 26, nr 2, zalecają oparty na nitrocefynie test β -laktamazy w celu zbadania *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
- Grupy biotypu dla *Haemophilus* sp. nie korelują z serotypami, tj. *Haemophilus influenzae* II nie jest definitywnie grupą B. Konieczne jest serotypowanie.
- Niekiedy, niektóre szczepy *N. meningitidis* nie wytwarzają kwasu z maltozy. Szczepy te mogą dawać nieprawidłową identyfikację *N. gonorrhoeae*, jeżeli NGL jest również ujemny. Zapoznać się z przypisami w książce kodów biotypu HNID lub instrukcji informacji mikrobiologicznej.
- Izolaty *H. haemolyticus* hodowane na agarze czekoladowym mogą być nieprawidłowo identyfikowane jako *H. influenzae*. Hemoliza na agarze z krwią końską może służyć do odróżniania *H. haemolyticus* od *H. influenzae*.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Wyniki oczekiwane dla każdego testu i gatunku — patrz tabela odsetka reakcji dodatnich HNID. (patrz Tabela 3.)

Tabela 3 Tabela prawdopodobieństwa Odsetek reakcji dodatnich HNID ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus</i> / <i>paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
Gatunki <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Pokazane w niniejszej tabeli wartości interpretacji reakcji dodatnich nie są faktycznymi odsetkami, ale obrazami klinicznymi opartymi na opublikowanych danych i wynikach MicroScan.

2. *Haemophilus influenzae* VI-1 to biotyp klasyfikacji biotypu Oberhofer. *Haemophilus influenzae* VI-2 to biotyp klasyfikacji biotypu Kilian.¹⁸

Spodziewane reakcje zostały wyrażone jako dziewięć wartości:					
Wartość	Znaczenie	Wartość	Znaczenie	Wartość	Znaczenie
1	Dodatnia Reakcja bardzo rzadka	25	Większość reakcji ujemnych	90	Ujemna Reakcja niezbyt częsta
5	Dodatnia Reakcja rzadka	50	Dodatnia lub ujemna reakcja	95	Ujemna Reakcja rzadka
10	Dodatnia Reakcja niezbyt częsta	75	Większość reakcji dodatnich	99	Ujemna Reakcja bardzo rzadka

KONTROLA JAKOŚCI

Czystość hodowli należy sprawdzać przy użyciu hodowli podrzędnej z zawiesiny inokulum na odpowiednich podłożach agarowych. Jeżeli wykryta zostanie hodowla mieszana, wyniki testu są nieważne. Dopuszczalność podłoży identyfikacyjnych może być sprawdzana przez badania przy użyciu następujących szczepów: (Tabela 4.)

Tabela 4

Tabela kontroli jakości

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Wynik dodatni można uzyskać przy użyciu *Neisseria mucosa* ATCC 49233.

2. Wynik dodatni można uzyskać w przypadku *Stenotrophomonas maltophilia*, ATCC 49130.

3. Wynik dodatni można uzyskać przy użyciu *Gardnerella vaginalis*, ATCC 49145.

WARUNKI GWARANCJI

System jest objęty gwarancją i podlega warunkom gwarancji zawartym w umowie dotyczącej systemu lub jego odczynników. Klient jest odpowiedzialny za przeprowadzanie procedur rutynowej konserwacji zapobiegawczej. Naprawy wynikające z nieprzeprowadzania tych procedur konserwacyjnych we wskazanych odstępach czasu firma Beckman Coulter wykonuje według własnego uznania i na koszt klienta.

Legenda symboli

Legenda symboli			
Symbol	Nazwa symbolu	Opis normy	Standard
②	Nie używać ponownie	Wskazuje, że urządzenie medyczne jest przeznaczone do jednorazowego użytku lub do użycia u jednego pacjenta podczas jednego zabiegu.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Termin ważności	Wskazuje datę, po upływie której urządzenie medyczne nie nadaje się do użytku.	ISO 15223-1; 5.1.4
LOT	Kod partii	Wskazuje kod partii producenta, dzięki któremu można zidentyfikować partię lub serię.	ISO 15223-1; 5.1.5
REF	Numer katalogowy	Wskazuje numer katalogowy producenta, dzięki któremu można zidentyfikować urządzenie medyczne.	ISO 15223-1, punkt 5.1.6

Legenda symboli

Symbol	Nazwa symbolu	Opis normy	Standard
	Producent	Wskazuje producenta urządzenia medycznego zgodnie z definicjami podanymi w dyrektywach UE 90/385/EWG, 93/42/EWG i 98/79/WE.	ISO 15223-1, punkt 5.1.1
	Data produkcji	Wskazuje datę produkcji urządzenia medycznego.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	Wskazuje autoryzowanego przedstawiciela we Wspólnocie Europejskiej.	ISO 15223-1, punkt 5.1.2
	Wystarczy na wykonanie <n> testów	Wskazuje całkowitą liczbę testów IVD, które można przeprowadzić za pomocą danego testu IVD. (Zazwyczaj umieszczone na zestawach odczynników).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Diagnostyczne urządzenie medyczne do badań <i>in vitro</i>	Wskazuje urządzenie przeznaczone do stosowania jako urządzenie medyczne do diagnostyki <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, punkt 5.5.1
	Ograniczenia temperatury	Wskazuje granice temperatury, do jakich można bezpiecznie używać urządzenia medycznego.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Zapoznać się z instrukcją użycia	Wskazuje konieczność zapoznania się z instrukcją użycia.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Znak CE	Znak zgodności z normami Unii Europejskiej	ND.
	Zawartość	ND.	ND.
	Zawartość (opakowania)	Środek przeciwbakteryjny (skrót)	ND.
	Zawartość (opakowania)	Substrat identyfikacyjny (skrót)	ND.
	Karta Charakterystyki Bezpieczeństwa	Wskazuje kartę charakterystyki substancji.	ND.
	Made in USA	ND.	ND.
	Wyłącznie do zastosowania eksportowego	ND.	ND.
	Objętość do przygotowania	ND.	ND.
	Delikatne elementy. Obchodzić się ostrożnie.	Wskazuje urządzenie medyczne, które może złamać się lub zostać uszkodzone, jeżeli nie będzie obsługiwane ostrożnie.	ISO 15223-1; 5.3.1

Legenda symboli

Symbol	Nazwa symbolu	Opis normy	Standard
	Tą stroną do góry	Wskazuje prawidłową pozycję pionową	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements. (ISO 15223-1: Urządzenia medyczne — Symbole do stosowania na etykietach wyrobów medycznych, w ich oznakowaniu i w dostarczanych z nimi informacjach — Część 1: Wymagania ogólne).			

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione tu znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

MicroScan

HNID Procedural Manual (Procesní příručka HNID)

REF B1012-10B

URČENÉ POUŽITÍ

Systém HNID je navržen k rychlé identifikaci produkce β -laktamáz u druhů *Neisseria*, druhů *Haemophilus* a organismů *Branhamella catarrhalis* a *Gardnerella vaginalis*. Rovněž je možné provést biotyping *Haemophilus influenzae* a *Haemophilus parainfluenzae*.

SHRNUTÍ A PRINCIP

K identifikaci náročných gramnegativních koků a bacilů se používají modifikované konvenční a chromogenní testy.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Ve speciální inokulační živné půdě se připraví suspenze testovaného organismu, která odpovídá 3. stupni McFarlandova standardu. Panel HNID se rehydratuje a zaočkuje živnou půdou a inkubuje se po dobu 4 hodin. Po inkubaci se provede identifikace, která se zakládá na změnách pH, na využití určitých substrátů nebo na jiných biochemických reakcích. K detekci enzymu β -laktamázy se používá rychlá acidometrická metoda.^{13,14,15}

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Panely a reagencie HNID jsou pouze pro diagnostiku *in vitro*. Zabraňte kontaktu peptidázové reagencie nebo indolové reagencie HNID s očima, kůží a oblečením. Během celého postupu používejte aseptické techniky a dodržujte zavedená preventivní opatření proti mikrobiologickým rizikům. Obzvláště mějte na paměti, že inokulované panely obsahují potenciálně patogenní organismy.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při teplotě 2–8 °C. Pokud se po rehydrataci pomocí inokulační živné půdy HNID zdá, že některý ze substrátů má pozitivní reakci, panel vyhodte. Pozitivní barevné reakce naleznete v biochemické interpretační tabulce.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na adrese techdocs.beckmancoulter.com

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Vzorky se odeberou a umístí na primární izolační média podle laboratorních postupů popsaných v dokumentu *Manual of Clinical Microbiology* (Příručka klinické mikrobiologie).¹⁶

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Panel HNID (B1012-10B)

Procesní příručka

Dokument HNID Biotype Codebook (Kódová kniha biotypů HNID)

Pracovní list

VYŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Inokulační živná půda HNID (B1015-16)

Peptidázová reagencie (B1012-30B)

Kryt (B1010-56B)

Minerální olej, 60 ml (B1010-40)

Minerální olej, 250 ml (B1010-40A) – K použití POUZE pro přístroje WalkAway SI/ (a přístroje WalkAway vylepšené funkcí automatického převrstvení olejem)

0,5% N,N-dimetyl- α -naftylamin (B1010-45A)

Indolová reagencie HNID (B1015-15)

0,8% kyselina sulfanilová (B1010-44A)

Pipeta a sterilní špičky na objem 50 μ l

Sterilní dřevěné aplikátory nebo sterilní očkovací klička

McFarlandův standard zákalu 3. stupně tvořený síranem barnatým

McFarlandův standard zákalu 4. stupně tvořený síranem barnatým

Třepačka vortex

35–37 °C, inkubátor, který není CO₂

Organismy pro kontrolu kvality:

C29877–AB

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

POSTUP

1. Příprava panelu

Vyjměte panel z chladničky a *ihned* ho vyjměte ze sáčku. **Panely by se neměly používat, pokud není přítomno vysoušecí činidlo nebo je roztržené, nebo pokud je obal poškozený (rozlepený, proděravělý nebo roztržený).** Před použitím nechte panel a inokulační živnou půdu HNID vytemperovat na pokojovou teplotu. Panely můžete skládat na sebe, na vrchním musí být čistý kryt.

2. Příprava organismu

Pomocí sterilního aplikátoru nebo sterilní očkovací kličky přeneste dostatek morfologicky podobných kolonií z 18–24 hodin staré primární izolační misky (krevní agar, čokoládový agar, agar GV nebo Thayer-Martinův agar) do inokulační živné půdy HNID, která zhruba odpovídá McFarlandovu standardu zákalu 3. stupně tvořenému síranem barnatým. Pro druhy *Neisseria* je potřeba použít McFarlandův standard zákalu 4. stupně tvořený síranem barnatým. Před zaočkováním panelu zvortexujte inokulační živnou půdu. K inokulaci panelů HNID používejte půdu, která je srovnatelná s McFarlandovým standardem zákalu minimálně 3. stupně tvořeným síranem barnatým.

3. Inokulace

Přeneste 50 µl (0,05 ml) inokulační živné půdy do každé označené jamky panelu HNID. K tomu byste měli použít pipetu a sterilní špičky na 50 µl. Po inokulaci každého panelu doporučuje společnost MicroScan připravit subkulturu, která bude sloužit jako kontrola čistoty. K tomu použijte 1 kapku zbývající inokulační živné půdy a vhodné médium.

POZNÁMKA: Pro použití se systémy autoSCAN-4 a WalkAway musí být rehydratována i jamka LOC.

4. Převrstvení biochemickým olejem

Pomocí lahvičky s kapátkem převrstvěte jamku URE 2–3 kapkami minerálního oleje. Médium v jamce by mělo být zcela překryto, ale jamka by neměla přetékat.

POZNÁMKA: Přístroje WalkAway *SI* (a přístroje WalkAway vylepšené funkcí automatického převrstvení olejem) automaticky přidají olej do jamky URE.

5. Inkubace

Inkubujte inokulované panely 4 hodiny při teplotě 35–37 °C v inkubátoru, který není CO₂ inkubátorem. Naskládejte panely na sebe do skupin po 4 až 5. Na vrchní panel umístěte kryt, abyste zabránili odpařování.

6. Vyhodnocení panelů – vizuální nebo touchSCAN

- A. Po 4hodinové inkubaci při 35–37 °C by měly být nejprve odečteny testy, které nevyžadují přidání reagensů (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA a BL).
- B. Přidejte reagentie následujícím způsobem:
 - a. PRO, NGL, ZAR
Do jamek PRO, NGL a ZAR přidejte 1 kapku peptidázové reagentie. Počkejte 3–5 minut, než se rozvine barevná reakce.
 - b. NO₃, NO₂
Přidejte 1 kapku 0,8% kyseliny sulfanilové a 1 kapku 0,5% N,N-dimetyl- α -naftylaminu do jamek NO₃ a NO₂. Počkejte 3–5 minut, než se rozvine barevná reakce.
 - c. IND
Do jamky IND přidejte 1–2 kapky indolové reagentie HNID. Dojde k okamžitému zbarvení.
- C. Interpretujte výsledky podle biochemické interpretační tabulky a zaznamenejte výsledky do dodaného pracovního listu nebo zadejte pozitivní reakce pomocí čtecího zařízení touchSCAN.

Tabulka 1, Substráty

Substráty	Zkr.	Substráty	Zkr.
Indoxylfosfát	IDX	Močovina	URE
Nitrát	NO ₃	Ornitin	ORN
Dusitan	NO ₂	Indol	IND
Glukóza	GLU	L-prolyl-β-naftylamid	PRO
Sacharosa	SUC	N-γ-L-glutamyl-β-naftylamid	NGL
Maltóza	MAL	N-α-benzoyl-DL-Arginin-β-naftylamid	ZAR
Fruktóza	FRU	p-nitrofenyl-α-D-glukosid	AGL
Laktóza	LAC	Škrob	STA
o-nitrofenyl-β-D-galaktosid	GAL	β-laktamáza (penicilin)	BL

7. Vyhodnocení panelů autoSCAN-4

- A. Po 4hodinové inkubaci při 35–37 °C převrstvěte GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA a BL minerálním olejem, než přidáte reagensie.
- B. Přidejte reagensie následujícím způsobem:
- PRO, NGL, ZAR
Do jamek PRO, NGL a ZAR přidejte 1 kapku peptidázové reagensie. Počkejte 3–5 minut, než se rozvine barevná reakce.
 - NO₃, NO₂
Přidejte 1 kapku 0,8% kyseliny sulfanilové a 1 kapku 0,5% N,N-dimetyl-α-naftylaminu do jamek NO₃ a NO₂. Počkejte 3–5 minut, než se rozvine barevná reakce.
 - IND
Do jamky IND přidejte 1–2 kapky indolové reagensie HNID. Dojde k okamžitému zbarvení.
- C. Když už se reakce rozvíjela přiměřenou dobu, vložte panel do systému autoSCAN-4 k vyhodnocení.

8. Vyhodnocení panelů systémů WalkAway

- A. Po 4hodinové inkubaci se nejprve odečtou testy, které nevyžadují přidání reagensií (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA a BL).
- B. Systém WalkAway poté přidá vhodné reagensie k následujícím: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ a IND. Poté jsou tyto reakce interpretovány.

POZNÁMKA: Systém WalkAway nejprve odečítá jamky, které nevyžadují reagensie, aby výsledky nebyly ovlivněny výpary z reagensií, které se mohou zachytit pod víkem. Proto nelze ověřit biochemické látky ručně.

VÝSLEDKY**Tabulka 2**

Biochemická interpretační tabulka			
Well	Pozitivní	Negativní	Poznámky
IDX	Modrý až šedý precipitát	Čirá	
NO ₃	Růžová, červená až červenorudá	Čirá až žlutá	Výsledky zaznamenané po 3–5 minutách.
NO ₂	Čirá až žlutá	Růžová, červená až červenorudá	Výsledky zaznamenané po 3–5 minutách.
GLU SUC LAC	Oranžová až žlutá	Červená až červená/oranžová	Jakékoliv červené zbarvení by se mělo zaznamenat jako negativní.
FRU	Žlutá až žlutá/oranžová	Červená až oranžová	Jakékoliv žluté zbarvení by se mělo zaznamenat jako pozitivní.
MAL	Žlutá	Červená až žlutá/oranžová	
GAL	Žlutá	Čirá	Bledě žlutá je pozitivní. Použijte jamku IND před přidáním reagensie jako negativní kontrolu.
URE	Červená až červenorudá	Žlutá až světle růžová	
ORN	Zelená až modrá	Žlutá až žlutá/zelená	Jakékoliv žluté zbarvení by se mělo zaznamenat jako negativní.
IND	Červený prstenec	Žlutá	Jakékoliv červené zbarvení by se mělo zaznamenat jako pozitivní.

Biochemická interpretační tabulka			
Well	Pozitivní	Negativní	Poznámky
PRO NGL ZAR	Červená až červenorudá	Žlutá až oranžová	Výsledky by se měly zaznamenat během 3–5 minut. Slabá reakce ZAR se projevuje zakaleným vzhledem.
AGL	Žlutá	Čirá	Jakékoli žluté zbarvení by se mělo zaznamenat jako pozitivní. Použijte jamku IND před přidáním reagensie jako negativní kontrolu.
STA BL	Žlutá až žlutá/oranžová	Červená až oranžová	Jakékoliv žluté zbarvení by se mělo považovat za pozitivní.
LOC	Pro vyrovnání panelů systému autoSCAN-4 a WalkAway		

Reakce

Indoxylfosfatáza (IDX) – Alkalická fosfatáza rozštěpí indoxylfosfát na volný indoxyl, který ve spojení s molekulárním kyslíkem vytváří nerozpustnou modrou sloučeninu.

Dusičnan (NO₃) – Schopnost organismu redukovat dusičnan na dusitan se detekuje přidáním kyseliny sulfanilové a N,N-dimetyl- α -naftylaminu, kdy tyto látky v přítomnosti dusitanu vytvářejí červené zbarvení.

Dusitan (NO₂) – Schopnost organismu redukovat dusitan na volný plynný dusík se detekuje přidáním kyseliny sulfanilové a N,N-dimetyl- α -naftylaminu. V přítomnosti dusitanu dochází k červenému zbarvení, což znamená negativní výsledek testu. Pokud nedojde ke zbarvení, byl dusitan redukován a výsledek testu je pozitivní.

Využívání sacharidů (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) – Využívání specifických sacharidů vede k vytváření kyselin, jež způsobují pokles pH, který je zjištěn indikátorem s fenolovou červení.

β -galaktosidáza (GAL) – β -galaktosidáza hydrolyzuje o-nitrofenyl- β -D-galaktopyranosid, který uvolňuje žlutě zbarvený o-nitrofenol.

α -glukosidáza (AGL) – α -glukosidáza hydrolyzuje p-nitrofenyl- α -D-glukosid, který uvolňuje žlutě zbarvený p-nitrofenol.

Močovina (URE) – Enzym ureáza štěpí močovinu a vytváří amoniak, jenž má za následek zvýšení pH, které je zjištěno indikátorem s fenolovou červení.

Ornitin (ORN) – Dekarboxylace ornitinu vede k alkalizaci média, která je zjištěna pH indikátorem s bromtymolovou modří.

Indol (IND) – Metabolismus tryptofanu vede k tvorbě indolu, který se detekuje přidáním indolové reagensie HNID. V přítomnosti indolu se vytvoří červený prstenec.

Peptidázy (PRO, NGL, ZAR) – Schopnost organismu vytvářet specifický peptidázový enzym se stanovuje rozštěpením vazby příslušné aminokyseliny s β -naftylamidem. Volný β -naftylamid se poté detekuje vytvořením komplexu s p-dimethylaminocinnamaldehydem za tvorby červeného až červenorudého zbarvení.

β -laktamáza (BL) – Penicilin G je β -laktamázou degradován na kyselinu penicilinovou. Změna pH se detekuje indikátorem s fenolovou červení.

Identifikace organismu

K identifikaci neznámých testovacích organismů se používá dokument MicroScan HNID Biotype Codebook (Kódová kniha biotypů HNID MicroScan). Tato kódová kniha byla vytvořena z databáze informací MicroScan, která je sestavena z testů s panelem HNID.

Kódová kniha biotypů zajišťuje počítačovou analýzu 17 testů, kterou se identifikují neznámé organismy. Tyto testy jsou přeloženy do 6místného „čísla biotypu“, podle něhož kódová kniha uvádí identifikaci organismu společně s relativní pravděpodobností. Postup vytváření čísla biotypu naleznete v dokumentu HNID Biotype Codebook (Kódová kniha biotypů HNID). Když je pro číslo biotypu uveden pouze jeden organismus, je relativní pravděpodobnost 99,9 %. Pokud je pro konkrétní číslo biotypu možná více než jedna identifikace druhu, vytisknou se všechny možnosti seřazené od nejvyšší pravděpodobnosti (s maximální hodnotou 99,9 %).

Pokud dostanete číslo biotypu, které není v kódové knize, doporučujeme zopakovat test s čerstvou kulturou. Pokud po zopakování testu dostanete stejné výsledky, poraďte se se službou Biotype Lookup (Hledání biotypů) na webu společnosti Beckman Coulter nebo s vaším místním distributorem.

OMEZENÍ POUŽITÍ SOUPRAVY

1. Pokud bude pro konkrétní číslo biotypu uvedena více než jedna identifikace druhu, může být pro správnou identifikaci nezbytné provést doplňkové testy. Měla by se otestovat i další kritéria, jako například faktory X a V a aerotolerance.
2. Je možné testovat pouze druhy *Haemophilus*, druhy *Neisseria*, organismy *Branhamella catarrhalis* a *Gardnerella vaginalis* – nepoužívejte tento produkt pro jiné kokobacilární organismy.
3. Výsledky testu musí interpretovat kvalifikovaný personál s odpovídajícími znalostmi, který analýzu posoudí a případně provede nezbytné dodatečné potvrzující testy, a teprve poté přijme danou identifikaci organismu. Viz poznámky pod čarou uvedené v dokumentu HNID Biotype Codebook (Kódová kniha biotypů HNID) nebo Microbiology Information Manual (Mikrobiologická informační příručka).

- Číslo biotypu by se neměla používat pro fenotypovou identifikaci kmenů izolovaných z různých vzorků od stejného pacienta.
- Směrnice CLSI M7-A7, svazek 26, č. 2, doporučuje testovat organismus *Branhamella catarrhalis* pomocí β -laktamázy testu založeného na nitrocefinu.¹⁷
- Skupiny biotypů pro *Haemophilus* sp. nejsou ve vzájemném vztahu se sérotypy, tj. *Haemophilus influenzae* II není definitivně skupina B. Je nezbytné provést sérotypování.
- Některé kmeny *N. meningitidis* občas nevytvářejí z maltózy kyselinu. Tyto kmeny mohou být nesprávně identifikovány jako *N. gonorrhoeae*, pokud je negativní i NGL. Viz poznámky pod čarou uvedené v dokumentu HNID Biotype Codebook (Kódová kniha biotypů HNID) nebo Microbiology Information Manual (Mikrobiologická informační příručka).
- Izoláty *H. haemolyticus* vykultivované na čokoládovém agaru mohou být nesprávně identifikovány jako *H. influenzae*. *H. haemolyticus* lze odlišit od *H. influenzae* hemolýzou na agaru s koňskou krví.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Očekávané výsledky pro každý test a každý druh najdete v tabulce Procento pozitivních reakcí HNID. (Viz tabulka 3.)

Tabulka 3 Tabulka pravděpodobností Procento pozitivních reakcí HNID ¹																			
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA		
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1		
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1		
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1		
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1		
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1		
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1		
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1		
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1		
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1		
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1		
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1		
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1		
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1		
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1		
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1		
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1		
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1		
Druhy <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1		
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1		
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99		

- Interpretační hodnoty pozitivních reakcí uvedené v této tabulce nejsou skutečné procentuální hodnoty, ale reprezentativní hodnoty založené na publikovaných údajích a výsledcích systému MicroScan.
- Haemophilus influenzae* VI-1 je biotyp Oberhoferovy klasifikace biotypů. *Haemophilus influenzae* VI-2 je biotyp VI Kilianovy klasifikace biotypů.¹⁸

Očekávané reakce byly vyjádřeny devíti hodnotami:					
Hodnota	Význam	Hodnota	Význam	Hodnota	Význam
1	Poz. reakce je velmi vzácná	25	Reakce je většinou negativní	90	Neg. reakce není běžná
5	Poz. reakce je vzácná	50	Poz. nebo neg. reakce	95	Neg. reakce je vzácná
10	Poz. reakce není běžná	75	Reakce je většinou pozitivní	99	Neg. reakce je velmi vzácná

KONTROLA KVALITY

Čistota kultury by se měla zkontrolovat připravením subkultury z inokulační suspenze na vhodném agarovém médiu. Pokud je detekována smíšená kultura, jsou výsledky testu neplatné. Přijatelnost identifikačních médií se může zkontrolovat testováním s následujícími kmeny (tabulka 4):

Tabulka 4

Tabulka kontroly kvality

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Pozitivní výsledek můžete získat s *Neisseria mucosa* ATCC 49233.
2. Pozitivní výsledek můžete získat se *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.
3. Pozitivní výsledek můžete získat s *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

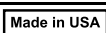
PROHLÁŠENÍ O ZÁRUČE

Na systém se vztahují záruční podmínky obsažené ve vašem smluvním ujednání o systému nebo reagenciích systému. Zákazník je zodpovědný za postupy rutinní preventivní údržby. Opravy způsobené neprováděním těchto postupů údržby v uvedených časových intervalech jsou vykonávány podle uvážení společnosti Beckman Coulter a na náklady zákazníka.

Klíč k symbolům

Klíč k symbolům			
Symbol	Název symbolu	Popis normy	Standard
	Nepoužívejte opakovaně	Označuje zdravotnické zařízení, které je určeno pro jednorázové použití nebo pro použití u jednoho pacienta během jedné procedury.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Datum spotřeby	Označuje datum, po jehož uplynutí se zdravotnické zařízení nemá používat.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Kód dávky	Označuje kód dávky výrobce pro účely identifikaci šarže nebo dávky.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Katalogové číslo	Uvádí katalogové číslo výrobce, podle něhož lze zdravotnické zařízení identifikovat.	ISO 15223-1, klauzule 5.1.6
	Výrobce	Uvádí výrobce zdravotnického zařízení podle definice ve směrnicích EU 90/385/EHS, 93/42/EHS a 98/79/ES.	ISO 15223-1, klauzule 5.1.1
	Datum výroby	Označuje datum výroby zdravotnického zařízení.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Oprávněný zástupce v Evropském společenství	Označuje oprávněného zástupce v Evropském společenství.	ISO 15223-1, klauzule 5.1.2
	Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů	Označuje celkový počet testů IVD, které lze se zařízením IVD provést. (Obvykle je součástí reagenčních souprav.)	ISO 15223-1; 5.5.5

Klíč k symbolům

Symbol	Název symbolu	Popis normy	Standard
	Zdravotnické zařízení pro diagnostiku <i>in vitro</i>	Označuje zdravotnické zařízení, které je určeno k použití jako zdravotnické zařízení pro diagnostiku <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, klauzule 5.5.1
	Teplotní omezení	Označuje mezní teploty, jimž je možné zdravotnické zařízení bezpečně vystavit.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Postupujte podle návodu k použití	Označuje, že uživatel musí postupovat podle návodu k použití.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Značka CE	Označení shody CE	Neuplatňuje se
	Obsah	Neuplatňuje se	Neuplatňuje se
	Obsah (balení)	Antimikrobiální látka (zkratka)	Neuplatňuje se
	Obsah (balení)	Identifikační substrát (zkratka)	Neuplatňuje se
	Bezpečnostní list	Označuje bezpečnostní list.	Neuplatňuje se
	Made in USA	Neuplatňuje se	Neuplatňuje se
	Pouze pro export	Neuplatňuje se	Neuplatňuje se
	Rekonstituční objem	Neuplatňuje se	Neuplatňuje se
	Krehké, zacházejte opatrně	Označuje zdravotnické zařízení, které se může poškodit nebo zničit, pokud s ním není správně manipulováno.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Touto stranou vzhůru	Označuje správnou vertikální polohu.	ISO 7000: 0623

ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements. (ISO 15223-1: Zdravotnické prostředky – Značky pro štítky, označování a informace poskytované se zdravotnickými prostředky. Část 1: Obecné požadavky.)

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc., ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

MicroScan

HNID 절차 설명서

[REF] B1012-10B

사용목적

HNID 시스템은 *Neisseria* 종, *Haemophilus* 종, *Branhamella catarrhalis* 및 *Gardnerella vaginalis*에서의 베타 락타마제 생성을 신속히 동정하고 검출하도록 설계되었습니다. *Haemophilus influenzae* 및 *Haemophilus parainfluenzae*의 바이오타이핑도 수행될 수 있습니다.

요약 및 원리

변형된 기존 검사 및 발색 검사는 그람 음성 구균 및 간균 동정에 사용됩니다.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} 검사할 균의 3 McFarland 현탁액은 특수한 접종물 액체 배지로 만듭니다. HNID 패널은 액체 배지에서 재수화하고 접종되며 4시간 동안 배양됩니다. 배양 후에는 동정을 위해 pH의 변화 및 특정 기질의 이용 또는 다른 생화학적 반응을 해석합니다. 신속 산정량법은 베타 락타마제 효소의 검출에 사용됩니다.^{13,14,15}

경고 및 주의 사항

HNID 패널 및 시약은 체외 진단 용도로만 사용하십시오. 펩티다아제 시약 또는 HNID 인돌 시약이 눈, 피부, 옷에 닿아서는 안 됩니다. 해당 절차를 진행하는 동안 미생물학적 위험을 방지하기 위한 무균 기법과 확립된 예방 조치를 준수하고, 접종된 패널에 병원성균이 있을 수 있음을 특히 주의하십시오.

보관

2-8°C에서 보관하십시오. HNID 접종물 액체 배지로 재수화한 후 기질이 양성 반응을 보이는 경우 패널을 폐기합니다. 양성 색상 반응은 생화학적 해석 차트를 참조하십시오.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

[SDS] 안전보건자료는 techdocs.beckmancoulter.com에서 확인할 수 있습니다

검체 수집 및 준비

Manual of Clinical Microbiology(임상 미생물학 설명서)에 기술된 실험실 절차에 따라 표본을 채취하고 일차 분리 배지에 놓아야 합니다.¹⁶

제공되는 품목

HNID 패널(B1012-10B)

절차 설명서

HNID 바이오타입 코드 일람

워크시트

필요하지만 제공되지 않는 품목

HNID 접종물 액체 배지(B1015-16)

펩티다아제 시약(B1012-30B)

커버 트레이(B1010-56B)

미네랄 오일, 60 mL (B1010-40)

미네랄 오일, 250 mL (B1010-40A) - WalkAway SI 장비(및 자동 오일 오버레이 기능으로 업그레이드된 WalkAway 장비)에만 사용 가능

0.5% N, N-디메틸- α -나프틸아민(B1010-45A)

HNID 인돌 시약(B1015-15)

0.8% 설파닐산(B1010-44A)

50 μ L 피펫터(멸균 팁 포함)

멸균 목재 어플리케이터 또는 멸균 접종 루프

3 McFarland 바륨 황산염 혼탁도 표준액

4 McFarland 바륨 황산염 혼탁도 표준액

믹서 흔들기

35-37°C 비-CO₂ 배양기

정도관리균:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

절차

1. 패널 준비

냉장고에서 패널을 꺼낸 즉시/포일 파우치에서 꺼냅니다. **패널은 건조제가 없거나 파손된 경우 또는 포장 손상(개봉되어 있거나 구멍이 났거나 찢어짐)이 있을 경우 사용하지 마십시오.** 패널 및 HNID 접종물 액체 배지를 사용 전에 실온에 맞추십시오. 깨끗한 커버 트레이를 위에 놓고 패널을 쌓을 수 있습니다.

2. 균 준비

멸균 어플리케이터 또는 멸균 접종 루프를 사용하여 18-24시간 일차 분리 플레이트(혈액, 초콜릿, GV 또는 Thayer Martin 배지)에서 3 McFarland 바륨 황산염 혼탁도 표준액과 비슷한 HNID 접종물 액체 배지로 형태상 유사한 충분한 집락을 옮깁니다. *Neisseria* 종의 경우 4 McFarland 바륨 황산염 혼탁도 표준액이 바람직합니다. 패널 접종 전에 접종물 액체 배지를 흔들립니다. 3 미만의 McFarland 바륨 황산염 혼탁도 표준액을 사용하여 HNID 패널을 접종하지 마십시오.

3. 접종

접종물 액체 배지 50 µL(0.05 mL)를 HNID 패널의 라벨이 표시된 각 웰에 옮깁니다. 멸균 팁이 있는 50 µL 피펫터를 사용해야 합니다. 각 패널 접종 후 MicroScan은 여분의 접종물 액체 배지 1방울을 적절한 배지로 2차 배양하여 순도 검사를 하도록 권장합니다.

참고: autoSCAN-4 및 WalkAway 시스템과 함께 사용하려면 LOC 웰을 재수화해야 합니다.

4. 생화학적 오일 오버레이

점적 병을 사용하여 2-3방울의 미네랄 오일을 떨어뜨려 URE 웰을 얇게 덮습니다. 웰의 배지를 완전히 덮어야 하지만 웰에서 넘쳐서는 안 됩니다.

참고: WalkAway SI 장비(및 자동 오일 오버레이 기능으로 업그레이드된 WalkAway 장비)는 자동으로 URE 웰에 오일을 첨가합니다.

5. 배양

접종된 패널은 비-CO₂ 배양기에서 35-37°C로 4시간 배양합니다. 증발을 막기 위해 패널 위에 커버 트레이를 올려서 4-5개씩 패널을 쌓습니다.

6. 육안 또는 touchSCAN 패널 판독

- 35-37°C에서 4시간 배양 후 시약(IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA 및 BL)을 첨가할 필요가 없는 검사를 먼저 판독해야 합니다.
- 시약을 다음과 같이 추가하십시오.
 - PRO, NGL, ZAR
펩티다아제 시약 1방울을 PRO, NGL 및 ZAR 웰에 첨가합니다. 색상 반응이 일어날 때까지 3-5분 동안 기다립니다.
 - NO₃, NO₂
0.8 % 설파닐산 1방울과 0.5 % N, N-디메틸-α-나프틸아민 1방울을 NO₃ 및 NO₂ 웰에 첨가합니다. 색상 반응이 일어날 때까지 3-5분 동안 기다립니다.
 - IND
HNID 인돌 시약 1-2방울을 IND 웰에 첨가합니다. 색깔이 즉시 나타납니다.
- 생화학적 해석 차트에 따라 반응을 해석하고 제공된 워크시트에 결과를 기록하거나 touchSCAN 리더를 통해 양성 반응을 입력하십시오.

표 1, 기질

기질	약어	기질	약어
인독실 인산염	IDX	요소	URE
질산염	NO ₃	오르니틴	ORN
아질산염	NO ₂	인돌	IND

기질	약어	기질	약어
글루코스	GLU	L-프로릴-β-나프틸아미드	PRO
수크로오스	SUC	N-γ-L-글루타밀-β-나프틸아미드	NGL
말토오스	MAL	N-α-벤조일-DL-아르기닌-β-나프틸아민	ZAR
프락토스	FRU	p-니트로페닐-α-D-글루코시드	AGL
락토스	LAC	녹말	STA
o-니트로페닐-β-D-갈락토시드	GAL	베타 락타마제(페니실린)	BL

7. autoSCAN-4 패널 판독

- 35-37°C에서 4시간 배양 후, 시약을 첨가하기 전에 GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA 및 BL에 미네랄 오일을 얹게 덮습니다.
- 시약을 다음과 같이 추가하십시오.
 - PRO, NGL, ZAR
펩티다아제 시약 1방울을 PRO, NGL 및 ZAR 웰에 첨가합니다. 색상 반응이 일어날 때까지 3-5분 동안 기다립니다.
 - NO₃, NO₂
0.8 % 설파닐산 1방울과 0.5 % N, N-디메틸-α-나프틸아민 1방울을 NO₃ 및 NO₂ 웰에 첨가합니다. 색상 반응이 일어날 때까지 3-5분 동안 기다립니다.
 - IND
HNID 인돌 시약 1-2방울을 IND 웰에 첨가합니다. 색깔이 즉시 나타납니다.
- 적절한 시간 동안 각 반응이 일어난 후 판독을 위해 패널을 autoSCAN-4에 삽입합니다.

8. WalkAway 시스템 패널 판독

- 4시간 배양 후 시약(IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA 및 BL)을 첨가할 필요가 없는 검사를 먼저 판독합니다.
- WalkAway는 적절한 시약을 PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ 및 IND에 추가합니다. 이후 이러한 반응을 해석합니다.

참고: WalkAway는 트레이 뚜껑에 시약 연무가 갇혀서 결과가 변경되지 않도록 시약이 필요하지 않은 웰을 먼저 판독합니다. 따라서 생화학 물질은 수동으로 검증할 수 없습니다.

결과

표 2

생화학적 해석 차트

웰	양성	음성	참고
IDX	파란색 - 회색 침전물	투명	
NO ₃	분홍색, 빨간색 - 자주색	투명 - 노란색	결과는 3-5분 후 기록됩니다.
NO ₂	투명 - 노란색	분홍색, 빨간색 - 자주색	결과는 3-5분 후 기록됩니다.
GLU SUC LAC	주황색 - 노란색	빨간색 - 빨간색/주황색	빨간색은 모두 음성으로 기록해야 합니다.
FRU	노란색 - 노란색/주황색	빨간색 - 주황색	노란색은 모두 양성으로 기록해야 합니다.
MAL	노란색	빨간색 - 노란색/주황색	
GAL	노란색	투명	연한 노란색은 양성입니다. 시약을 첨가하기 전에 IND 웰을 음성 대조물질로 사용하십시오.
URE	빨간색 - 자주색	노란색 - 연분홍색	
ORN	녹색 - 파란색	노란색 - 노란색/초록색	노란색은 모두 음성으로 기록해야 합니다.
IND	빨간색 고리	노란색	빨간색은 모두 양성으로 기록해야 합니다.
PRO NGL ZAR	빨간색 - 자주색	노란색 - 주황색	결과는 3-5분 이내에 기록해야 합니다. 약한 ZAR 반응은 탁한 형태로 나타납니다.
AGL	노란색	투명	노란색은 모두 양성으로 기록해야 합니다. 시약을 첨가하기 전에 IND 웰을 음성 대조물질로 사용하십시오.
STA BL	노란색 - 노란색/주황색	빨간색 - 주황색	노란색은 모두 양성으로 고려해야 합니다.
LOC	autoSCAN-4 및 WalkAway 시스템 패널 정렬에만 해당		

반응

인독실 인산분해효소(IDX) - 알칼리성 인산분해효소는 인독실 인산염을 유리 인독실로 쪼개며 이는 산소 분자와 결합하여 불용성 파란색 화합물을 형성합니다.

질산염(NO_3) - 균이 질산염을 아질산염으로 환원시키는 능력은 설파닐산 및 N, N-디메틸- α -나프틸아민을 첨가하여 검출되며 아질산염이 있을 경우 빨간색을 나타냅니다.

질산염(NO_2) - 균이 아질산염을 유리 질소 가스로 환원시키는 능력은 설파닐산 및 N, N-디메틸- α -나프틸아민을 첨가할 때 검출됩니다. 아질산염이 있으면 빨간색이 나타나며 이는 음성 검사입니다. 색이 나타나지 않으면 아질산염은 환원된 것으로 이 때 검사는 양성 검사입니다.

탄수화물 이용(GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) - 특정 탄수화물을 이용하면 산이 형성되고 페놀 레드 지시약으로 pH 감소가 나타납니다.

베타 갈락토시다아제(GAL) - 베타 갈락토시다아제는 o-니트로페닐- β -D-갈락토피라노시드를 가수분해하며, 노란색의 o-니트로페놀을 방출합니다.

α -글루코시다아제(AGL) - α -글루코시다아제는 p-니트로페닐- α -D-글루코시드를 가수분해하며 노란색의 p-니트로페놀을 방출합니다.

요소(URE) - 요소분해효소는 요소를 분리해 암모니아를 형성하며 페놀 레드 지시약으로 pH 증가가 검출됩니다.

오르니틴(ORN) - 오르니틴의 탈카복시화는 배지의 알칼리화를 유발하며 이는 브롬티몰 블루 pH 지시약으로 검출됩니다.

인돌(IND) - 트립토판의 대사는 인돌을 형성시키며, 이는 HNID 인돌 시약을 추가해 검출됩니다. 인돌이 있으면 빨간색 고리가 형성됩니다.

펩티다아제(PRO, NGL, ZAR) - 특정 펩티다아제 효소를 생성하는 균의 능력은 β -나프틸아민 결합에서 적절한 아미노산을 분리하여 결정됩니다. 유리 β -나프틸아민은 p-디메틸아미노시남알데히드와 착화하여 빨간색에서 자주색을 띠게 되어 검출됩니다.

베타 락타마제(BL) - 페니실린 G는 베타 락타마제에 의해 페니실로산으로 분해됩니다. pH 변화는 페놀 레드 지시약으로 검출됩니다.

균 동정

MicroScan HNID 바이오타입 코드 일람은 알 수 없는 검사 대상 균의 동정에 사용됩니다. 이 코드 일람은 HNID 패널의 검사에서 수집된 MicroScan의 정보 데이터베이스에서 생성되었습니다.

바이오타입 코드 일람은 알 수 없는 균을 동정하기 위한 17개 검사의 컴퓨터 분석 결과를 제공합니다. 이러한 검사는 6자리 "바이오타입 번호"로 변환되며 코드 일람에는 균 동정 및 상대 확률이 기재되어 있습니다. 바이오타입 번호를 생성하는 절차는 HNID 바이오타입 코드 일람을 참조하십시오. 바이오타입 번호에 하나의 균만 기재된 경우 상대 확률은 99.9%입니다. 특정 바이오타입 번호에 두 개 이상의 종 동정이 가능한 경우 모든 가능성은 총 누적 확률 99.9%까지 가장 높은 확률 순서로 인쇄됩니다.

코드 일람에 없는 바이오타입 번호가 생기면 새 배양에서 검사를 반복할 것을 권장합니다. 재검 시 같은 결과가 나오면 Beckman Coulter 웹사이트의 Biotype Lookup Service를 이용하거나 현지 판매자에게 문의하십시오.

사용의 제약조건

1. 특정 바이오타입 번호에 2개 이상의 종 동정이 기재된 경우 정확한 동정을 위해 추가적인 검사가 필요할 수 있습니다. X 및 V 인자와 산소내성 등의 다른 기준에 대한 검사도 수행해야 합니다.
2. *Haemophilus* 종, *Neisseria* 종, *Branhamella catarrhalis* 및 *Gardnerella vaginalis* 만 검사할 수 있습니다. 다른 짧은 구간 균에 이 제품을 사용하지 마십시오.
3. 검사 결과를 판정하려면 훈련된 임상 전문가가 균 동정을 승인하기 전에 필요에 따라 판단, 지식 및 추가 확인 검사를 사용해야 합니다. HNID 바이오타입 코드 일람 또는 Microbiology Information Manual(미생물학 정보 설명서)에 나열된 각주를 참조하십시오.
4. 바이오타입 번호를 동일한 환자로부터 채취한 여러 표본에서 분리한 균주의 표현형 동정에 사용해서는 안 됩니다.
5. CLSI 지침 M7-A7, Vol. 26, No. 2에서는 *Branhamella catarrhalis* 검사를 위해 니트로세핀 기반의 베타 락타마제 검사를 권장합니다.¹⁷
6. *Haemophilus* 종의 바이오타입균은 혈청형과 상관관계가 없습니다. 즉, *Haemophilus influenzae II*는 분명히 그룹 B가 아닙니다. 혈청형구분이 필요합니다.
7. 때때로 일부 *N. meningitidis* 균주는 말토오스에서 산을 생성하지 않습니다. NGL도 음성인 경우 이러한 균주로 인해 *N. gonorrhoeae*의 동정이 올바르지 않을 수 있습니다. HNID 바이오타입 코드 일람 또는 Microbiology Information Manual(미생물학 정보 설명서)에 나열된 각주를 참조하십시오.
8. 초콜릿 한천에서 성장한 *H. haemolyticus* 분리주는 *H. influenzae*로 잘못 동정될 수 있습니다. 말 혈액 한천에서의 용혈은 *H. haemolyticus*와 *H. influenzae*를 구별하는 데 사용할 수 있습니다.

예상 수치

각 검사 및 종에 대한 예상 수치는 HNID 양성 반응 비율 차트를 참조하십시오. (표 3 참조.)

표 3 확률 차트 HNID 양성 반응 비율 ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae I</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae II</i>	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae III</i>	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae IV</i>	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae V</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-1²</i>	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-2²</i>	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae I</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae II</i>	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae III</i>	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae IV</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa (NIT +)</i>	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Neisseria</i> 종	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. 이 표에 나타난 양성 반응 해석 값은 실제 백분율이 아니라 발표된 데이터 및 MicroScan 결과에 기반한 표현입니다.
2. *Haemophilus influenzae VI-1*은 Oberhofer 바이오타입 분류의 바이오타입입니다. *Haemophilus influenzae VI-2*는 Kilian 바이오타입 분류의 바이오타입 VI입니다.¹⁸

예상 반응은 9개 값으로 발현되었습니다.					
값	의미	값	의미	값	의미
1	양성 반응 매우 드뭄	25	주요 반응 음성	90	음성 반응 일반적이 지 않음
5	양성 반응 드뭄	50	양성 또는 음성 반응	95	음성 반응 드뭄
10	양성 반응 일반적이 지 않음	75	주요 반응 양성	99	음성 반응 매우 드뭄

정도관리
배양 순도는 집종물 현탁액에서 적절한 한천 배지로 2차 배양하여 확인해야 합니다. 혼합된 배양액이 검출된 경우 검사 결과가 유효하지 않습니다. 다음 균주로 검사하여 동정 배지의 수용 가능성을 확인할 수 있습니다(표 4.).

표 4
정도관리 차트

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. *Neisseria mucosa* ATCC 49233으로 양성 결과를 얻을 수 있습니다.
2. *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130으로 양성 결과를 얻을 수 있습니다.
3. *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145으로 양성 결과를 얻을 수 있습니다.

품질 보증

이 시스템에는 시스템 또는 시약에 관한 계약에 포함된 보증 조항이 적용됩니다. 정기적인 예방적 유지보수 절차에 대한 책임은 고객에게 있습니다. 명시된 기간에 이러한 유지보수 절차를 수행하지 못해 발생하는 문제에 대한 수리는 Beckman Coulter의 재량에 따라 고객 부담으로 진행됩니다.

기호 목록

기호 목록			
기호	기호 제목	표준 설명	표준
	재사용 금지	일회용이거나 한 번 시술 시 한 명의 환자에만 사용 가능한 의료 기기임을 나타냅니다.	ISO 15223-1; 5.4.2
	사용 기한	이 날짜가 지나면 의료기기를 더 이상 사용할 수 없습니다.	ISO 15223-1; 5.1.4
	배치 코드	배치나 로트를 식별할 수 있는 제조업체의 일련번호를 나타냅니다.	ISO 15223-1; 5.1.5
	카탈로그 번호	의료 기기를 식별할 수 있는 제조업체의 카탈로그 번호를 나타냅니다.	ISO 15223-1, 제 5.1.6항
	제조업체	EU 지침 90/385/EEC, 93/42/EEC 및 98/79/EC에 정의된 의료 기기 제조업체임을 나타냅니다.	ISO 15223-1, 제 5.1.1항
	제조일	의료 기기가 제조된 날짜를 나타냅니다.	ISO 15223-1; 5.3.1
	유럽공동체 위임 대표	유럽연합(EU) 대리점을 나타냅니다.	ISO 15223-1, 제 5.1.2항
	<n>회 검사에 충분한 양 포함	IVD로 수행 가능한 IVD 검사의 총 횟수를 나타냅니다. (일반적으로 시약 키트에 포함됨).	ISO 15223-1; 5.5.5
	체/외 진단 의료 기기	체/외 진단용으로 사용되는 의료 기기임을 나타냅니다.	ISO 15223-1, 제 5.5.1항
	온도 한계	의료기기를 안전하게 노출시킬 수 있는 온도 한도를 나타냅니다.	ISO 15223-1; 5.3.7
	사용 안내 참조	사용 안내를 참조해야 함을 나타냅니다.	ISO 15223-1; 5.4.3
	CE 표시	유럽 적합성 규정 마크	해당 없음
	내용물	해당 없음	해당 없음
	내용물(패키지)	항균제(약어)	해당 없음
	내용물(패키지)	동정 기질(약어)	해당 없음
	안전보건자료	안전보건자료를 나타냅니다.	해당 없음
	Made in USA	해당 없음	해당 없음
	수출용	해당 없음	해당 없음
	조제 용량	해당 없음	해당 없음
	깨지기 쉬움, 취급 주의	조심스럽게 취급하지 않으면 의료 기기가 파손되거나 손상될 수 있음을 나타냅니다.	ISO 15223-1; 5.3.1

기호 목록			
기호	기호 제목	표준 설명	표준
	이 쪽이 윗면	올바르게 똑바로 세웠을 때의 위치를 나타냅니다.	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements(ISO 15223-1: 의료 기기 – 의료 기기 라벨용 기호, 제공할 라벨과 정보. 제 1부: 일반 요건).			

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.



MicroScan

HNID Prosedür Kılavuzu

REF B1012-10B

KULLANIM AMACI

HNID sistemi, *Neisseria* türleri, *Haemophilus* türleri, *Branhamella catarrhalis* ve *Gardnerella vaginalis*'te β -laktamaz üretiminin hızlı bir şekilde tanımlanması ve saptanması için tasarlanmıştır. *Haemophilus influenzae* ve *Haemophilus parainfluenzae* biyotiplenmesi de yapılabilir.

ÖZET VE PRENSİP

Zor üreyen Gram negatif koklar ve basillerin tanımlanması için modifiye geleneksel ve kromojenik testler kullanılır.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Test edilecek organizmanın 3 McFarland süspansiyonu, özel bir inokülüm sıvı besiyerinde yapılır. HNID paneli, sıvı besiyerinden rehidre edilir ve inoküle edilir ve 4 saat boyunca inkübe edilir. İnkübasyondan sonra pH'taki değişiklikler, belirli substratların kullanılması veya diğer biyokimyasal reaksiyonlar, tanımlama için yorumlanır. β -laktamaz enziminin saptanması için hızlı bir asidometrik yöntem kullanılır.^{13,14,15}

UYARILAR VE ÖNLEMLER

HNID panelleri ve reaktifleri yalnızca *in vitro* diagnostik kullanım içindir. Peptidaz Reaktifinin veya HNID İndol Reaktifinin göz, deri veya giysilerle temas etmesine izin vermeyin. Prosedürler boyunca, inokülasyon uygulanmış panellerin potansiyel olarak patojenik organizmalar içerdiği konusunda özel bir hassasiyetle mikrobiyolojik tehlikelere yönelik aseptik tekniklere ve belirlenmiş önlemlere uyun.

SAKLAMA

2-8°C'de saklayın. HNID İnokülüm Sıvı Besiyeri ile rehidrasyondan sonra, herhangi bir substrat pozitif reaksiyon gösteriyorsa paneli atın. Pozitif renk reaksiyonları için Biyokimyasal Yorumlama Tablosuna bakın.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna techdocs.beckmancoulter.com adresinden ulaşılabilir

NUMUNELERİN TOPLANMASI VE HAZIRLANMASI

Numuneler *Manual of Clinical Microbiology*'de (Klinik Mikrobiyoloji Kılavuzu) önerilen prosedürlere göre alınmalı ve primer izolasyon ortamlarına yerleştirilmelidir.¹⁶

SAĞLANAN MALZEMELER

HNID Paneli (B1012-10B)

Prosedür Kılavuzu

HNID Biyotip Kod Kitabı

Çalışma sayfası

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

HNID İnokülüm Sıvı Besiyeri (B1015-16)

Peptidaz Reaktifi (B1012-30B)

Panel Kapağı (B1010-56B)

Mineral Yağ, 60 mL (B1010-40)

Mineral Yağı, 250 mL (B1010-40A) — SADECE WalkAway SI cihazları (ve otomatik yağ kaplama özelliği ile yükseltilmiş WalkAway cihazları) ile kullanım içindir

%0,5 N,N-Dimetil- α -Naftilamin (B1010-45A)

HNID İndol Reaktifi (B1015-15)

%0,8 Sülfanilik Asit (B1010-44A)

50 μ L'lik Steril Uçlu Pipetör

Steril Tahta Aplikatör Çubuklar veya Steril İnokülasyon Özesi

3 McFarland Baryum Sülfat Türbidite Standardı

4 McFarland Baryum Sülfat Türbidite Standardı

Vorteks karıştırıcı

35-37°C'de CO₂'siz İnkübatör

Kalite Kontrol Organizmaları:

C29877-AB

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROSEDÜR

1. Panel Hazırlığı

Paneli buzdolabından çıkarın ve *hemen* folyo poşetten ayırın. **Nem alıcı yoksa veya yırtılmışsa veya ambalaj bütünlüğünde bozulma olmuşsa (açılmış, delinmiş ya da yırtılmış), paneller kullanılmamalıdır.** Kullanmadan önce panelin ve HNID İnokülüm Sıvı Besiyerinin oda sıcaklığına ulaşmasını bekleyin. Paneller, üzerlerine temiz bir panel kapağı yerleştirilerek istiflenebilir.

2. Organizmanın Hazırlanması

Steril bir aplikatör çubuğu veya steril bir inokülasyon özesi kullanarak, 18-24 saatlik bir birincil izolasyon petrisinden (Kan, Çikolata, GV veya Thayer Martin Agar) bir 3 McFarland Baryum Sülfat Türbidite Standardı ile karşılaştırılabilir HNID İnokülüm Sıvı Besiyerine morfolojik açıdan benzer yeterli miktarda koloni aktarın. *Neisseria* türleri için, 4 McFarland Baryum Sülfat Türbidite Standardı uygundur. Panel inokülasyonundan önce İnokülüm Sıvı Besiyerini vorteksleyin. Herhangi bir HNID panelini inoküle etmek için 3 McFarland Baryum Sülfat Türbidite Standardından daha azını kullanmayın.

3. İnokülasyon

HNID panelinin her bir etiketli kuyucuğuna 50 µL (0,05 mL) İnokülüm Sıvı Besiyeri aktarın. 50 µL'lik steril uçlu bir pipetör kullanılmalıdır. Her bir panel inokülasyonundan sonra MicroScan, saflık kontrolü olarak uygun bir besiyerine 1 damla fazla İnokülüm Sıvı Besiyeri alt kültürlenmesini önerir.

NOT: autoSCAN-4 ve WalkAway Sistemleri ile kullanım için, LOC kuyucuğunun ayrıca rehidre edilmesi gerekir.

4. Biyokimyasal Yağ Kaplamaları

Bir damlatma şişesi kullanarak URE kuyucuğunu 2-3 damla Mineral Yağı ile kaplayın. Kuyucuktaki ortamlar tamamen kaplanmalıdır ancak kuyucuk fazla doldurulmamalıdır.

NOT: WalkAway *SI* cihazları (ve otomatik yağ kaplama özelliği ile yükseltilmiş WalkAway cihazları) URE kuyucuğuna otomatik olarak yağ ekler.

5. İnkübasyon

İnoküle edilmiş paneli 4 saat boyunca 35-37°C'de CO₂'siz bir inkübatörde inkübe edin. Buharlaşmayı engellemek için üst panelin üzerine bir Tepsi Kapağı koyarak panelleri 4 ila 5'li gruplar halinde istifleyin.

6. Görsel veya touchSCAN Panel Okuma

- 35-37°C'de 4 saat inkübasyonun ardından, önce reaktiflerin eklenmesini gerektirmeyen testler (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA ve BL) okunmalıdır.
- Reaktifleri aşağıdaki şekilde ekleyin:
 - PRO, NGL, ZAR
PRO, NGL ve ZAR kuyucuklarına 1 damla Peptidaz Reaktifi ekleyin. Renk reaksiyonunun gelişmesi için 3-5 dakika bekleyin.
 - NO₃, NO₂
NO₃ ve NO₂ kuyucuklarına 1 damla %0,8'lik Sülfanilik Asit ve 1 damla %0,5'lik N,N-Dimetil-α-Naftilamin ekleyin. Renk reaksiyonunun gelişmesi için 3-5 dakika bekleyin.
 - IND
IND kuyucuğuna 1-2 damla HNID İndol Reaktifi ekleyin. Renk hemen oluşur.
- Reaksiyonları Biyokimyasal Yorumlama Tablosuna göre yorumlayın ve verilen çalışma sayfasına sonuçları kaydedin veya pozitif reaksiyonları touchSCAN okuyucu ile girin.

Tablo 1, Substratlar

Substratlar	Kıs.	Substratlar	Kıs.
İndoksil Fosfat	IDX	Üre	URE
Nitrat	NO ₃	Ornitin	ORN
Nitrit	NO ₂	İndol	IND
Glukoz	GLU	L-Prolil-β-Naftilamid	PRO
Sukroz	SUC	N-γ-L-Glutamil-β-Naftilamid	NGL
Maltoz	MAL	N-α-Benzoil-DL-Arjinin-β-Naftilamid	ZAR
Fruktoz	FRU	p-Nitrofenil-α-D-glukozid	AGL
Laktoz	LAC	Nişasta	STA
o-Nitrofenil-β-D-Galaktozid	GAL	β-Laktamaz (Penisilin)	BL

7. autoSCAN-4 Panel Okunması

- 35-37°C'de 4 saat inkübasyondan sonra, reaktifleri eklemeyen önce GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA ve BL'yi mineral yağ ile kaplayın.
- Reaktifleri aşağıdaki şekilde ekleyin:
 - PRO, NGL, ZAR
PRO, NGL ve ZAR kuyucuklarına 1 damla Peptidaz Reaktifi ekleyin. Renk reaksiyonunun gelişmesi için 3-5 dakika bekleyin.
 - NO₃, NO₂
NO₃ ve NO₂ kuyucuklarına 1 damla %0,8'lik Sülfanilik Asit ve 1 damla %0,5'lik N,N-Dimetil-α-Naftilamin ekleyin. Renk reaksiyonunun gelişmesi için 3-5 dakika bekleyin.
 - IND
IND kuyucuğuna 1-2 damla HNID İndol Reaktifi ekleyin. Renk hemen oluşur.
- Her bir reaksiyon uygun sürede geliştikten sonra, paneli okumak için autoSCAN-4'e yerleştirin.

8. WalkAway Sistemleri Panel Okuma

- 4 saat inkübasyonun ardından, önce reaktiflerin eklenmesini gerektirmeyen testler (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA ve BL) okunur.
- WalkAway daha sonra aşağıdakilere uygun reaktifleri ekler: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ ve IND. Bu reaksiyonlar daha sonra yorumlanır.

NOT: WalkAway, tepsi kapağı altında sıkışabilecek reaktif dumanları nedeniyle sonuçların değişmesini önlemek için önce reaktif gerektirmeyen kuyucukları okur. Bu nedenle, biyokimyasallar manuel olarak doğrulanamaz.

SONUÇLAR**Tablo 2**

Biyokimyasal Yorum Tablosu			
Well	Pozitif	Negatif	Notlar
IDX	Mavi ila Gri Çökme	Berrak	
NO ₃	Pembe, Kırmızı ila Macenta	Berrak ila Sarı	Sonuçlar, 3-5 dakika sonra kaydedilir.
NO ₂	Berrak ila Sarı	Pembe, Kırmızı ila Macenta	Sonuçlar, 3-5 dakika sonra kaydedilir.
GLU SUC LAC	Turuncu ila Sarı	Kırmızı ila Kırmızı/Turuncu	Herhangi bir kırmızı renk negatif olarak kaydedilmelidir.
FRU	Sarı ila Sarı/Turuncu	Kırmızı ila Turuncu	Herhangi bir sarı renk pozitif olarak kaydedilmelidir.
MAL	Sarı	Kırmızı ila Sarı/Turuncu	
GAL	Sarı	Berrak	Uçuk sarı pozitif kabul edilir. Negatif kontrol olarak reaktif eklemeyen önce IND kuyucuğunu kullanın.
URE	Kırmızı ila Macenta	Sarı ila Açık Pembe	
ORN	Yeşil ila Mavi	Sarı ila Sarı/Yeşil	Herhangi bir Sarı renk negatif olarak kaydedilmelidir.
IND	Kırmızı Halka	Sarı	Herhangi bir kırmızı renk pozitif olarak kaydedilmelidir.
PRO NGL ZAR	Kırmızı ila Macenta	Sarı ila Turuncu	Sonuçlar, 3-5 dakika içinde kaydedilmelidir. Zayıf bir ZAR reaksiyonu bulutlu bir görünüm ile gösterilir.

Biyokimyasal Yorum Tablosu

Well	Pozitif	Negatif	Notlar
AGL	Sarı	Berrak	Herhangi bir sarı renk pozitif olarak kaydedilmelidir. Negatif kontrol olarak reaktif eklenmeden önce IND kuyucuğunu kullanın.
STA BL	Sarı ila Sarı/Turuncu	Kırmızı ila Turuncu	Herhangi bir sarı renk pozitif olarak kabul edilmelidir.
LOC	autoSCAN-4 ve WalkAway Sistemi Panel Hizalaması için		

Reaksiyonlar

İndoksil Fosfataz (IDX) — Alkalın fosfataz, indoksil fosfatı çözünmeyen bir mavi bileşik oluşturacak şekilde moleküler oksijen ile birleşen serbest indoksile ayırır.

Nitrat (NO₃) — Bir organizmanın nitratı nitrite indirgeme yeteneği Sülfanilik Asit ve N,N-Dimetil- α -Naftilamin eklenmesiyle tespit edilir ve bu maddeler nitrit varlığında kırmızı renk oluşturur.

Nitrit (NO₂) — Bir organizmanın nitriti serbest nitrojen gazına indirgeme yeteneği Sülfanilik Asit ve N,N-Dimetil- α -Naftilamin eklenmesiyle tespit edilir. Nitrit varlığında, negatif test sonucu veren kırmızı bir renk oluşur. Renk oluşmazsa, nitrit indirgenmiştir ve test pozitifdir.

Karbonhidrat Kullanımı (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) — Spesifik bir karbonhidratın kullanılması, fenol kırmızısı indikatörü ile gösterilen pH düşüşüyle birlikte asit oluşumuna neden olur.

β -Galaktosidaz (GAL) — β -galaktosidaz, o-nitrofenil- β -D-galaktopiranozidi hidrolize eder ve bu da sarı renkli o-nitrofenolün serbestleşmesini sağlar.

α -Glukosidaz (AGL) — α -glukosidaz, p-nitrofenil- α -D-glukozidi hidrolize eder ve bu da sarı renkli p-nitrofenolün serbestleşmesini sağlar.

Üre (URE) — Üreaz enzimi, üre oluşturan amonyağı ayırır, bu da fenol kırmızısı indikatörü ile tespit edilen pH artışı ile sonuçlanır.

Ornitin (ORN) — Ornitinin dekarboksilasyonu, ortamın alkalileşmesine neden olur, bu da pH indikatörü bromotimol mavisi tarafından tespit edilir.

İndol (IND) — Triptofan metabolizması indol oluşumuna neden olur ve HNID İndol Reaktifi eklenerek tespit edilir. İndol varsa kırmızı bir halka oluşur.

Peptidazlar (PRO, NGL, ZAR) — Bir organizmanın belirli bir peptidaz enzimi üretme yeteneği, uygun amino asidin β -naftilamide bağlantısından ayrılmasıyla belirlenir. Serbest β -naftilamid daha sonra p-dimetilaminosinnamaldehit ile kompleks oluşturarak tespit edilir; bu kompleks kırmızı ila macenta arası bir renk üretir.

β -Laktamaz (BL) — Penisilin G, β -laktamaz tarafından Penisilloik Aside indirgenir. pH değişimi, fenol kırmızısı indikatörü ile tespit edilir.

Organizma Tanımlaması

MicroScan HNID Biyotip Kod Kitabı bilinmeyen test organizmalarının tanımlanması için kullanılır. Bu kod kitabı HNID panelindeki testlerden derlenen bilgileri içeren MicroScan veri tabanı kullanılarak oluşturulmuştur.

Biyotip Kod Kitabı, bilinmeyen organizmaları tanımlamak için 17 testin bilgisayar analizini sağlar. Bu testler, Kod Kitabının organizma tanımlamasını ve göreceli olasılığını listelediği 6 basamaklı bir "biyotip numarası"na çevrilir. Biyotip numarası oluşturma prosedürü için HNID Biyotip Kod Kitabı'na bakın. Biyotip numarası için sadece bir organizma listelendiğinde, göreceli olasılık %99,9'dur. Belirli bir biyotip numarası için birden fazla tür tanımlaması mümkün ise, tüm olasılıklar %99,9'luk kümülatif toplam olasılığa kadar en yüksek olasılık sırasına göre yazdırılır.

Kod Kitabında olmayan bir biyotip numarası ortaya çıkarsa, testi yeni bir kültürden tekrar etmenizi öneririz. Yeniden test yaptığınızda aynı sonuçları elde ederseniz Beckman Coulter web sitesinde Biyotip Arama Hizmetine başvurun veya yerel dağıtıcınıza danışın.

METODUN SINIRLILIKLARI

1. Belirli bir biyotip numarası için birden fazla tür tanımlaması listeleniyorsa, doğru tanımlama için ek testler gerekli olabilir. X ve V faktörleri ve aerotolerans gibi diğer kriterler için de testler yapılmalıdır.
2. Yalnızca *Haemophilus* türleri, *Neisseria* türleri, *Branhamella catarrhalis* ve *Gardnerella vaginalis* test edilebilir; bu ürünü diğer kokobasiler organizmalar için kullanmayın.
3. Test sonuçlarının yorumlanması, bir organizmaya ilişkin tanımlamayı kabul etmeden önce karara, bilgiye ve gerekli olduğu hallerde ilave doğrulayıcı testlere başvurusu gereken eğitimli klinik personel gerektirmektedir. HNID Biyotip Kod Kitabı'nda veya Microbiology Information Manual'da (Mikrobiyoloji Bilgi Kılavuzu) listelenmiş dipnotlara bakın.
4. Biyotip numaraları aynı hastadan alınan farklı numunelerden izole edilmiş suşlara ilişkin fenotipik tanımlama için kullanılmamalıdır.
5. CLSI kılavuzları M7-A7, Vol. 26, No. 2, *Branhamella catarrhalis*'in test edilmesi için nitrosefin bazlı β -Laktamaz testini önerir.¹⁷

6. *Haemophilus* türleri için biyotip grupları serotiplerle korele değildir, yani *Haemophilus influenzae* II kesin olarak B grubu değildir. Serotiplendirme gereklidir.
7. Nadiren, bazı *N. meningitidis* suşları maltozdan asit üretmez. Bu suşlar, NGL de negatifse yanlış bir *N. gonorrhoeae* tanımlaması verebilir. HNID Biyotip Kod Kitabı'nda veya Microbiologics Information Manual'da (Mikrobiyoloji Bilgi Kılavuzu) listelenmiş dipnotlara bakın.
8. Çikolata agar üzerinde üreyen *H. haemolyticus* izolatları *H. influenzae* olarak yanlış tanımlanabilir. At kanı agarındaki hemoliz, *H. haemolyticus*'u *H. influenzae*'dan ayırt etmek için kullanılabilir.

BEKLENEN DEĞERLER

Her test ve her türde beklenen sonuçlar için HNID Pozitif Reaksiyon Yüzdesi tablosuna bakın. (Tablo 3'e bakın.)

Tablo 3 Olasılık Şeması HNID Pozitif Reaksiyon Yüzdesi ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus</i> /paraphrophilus	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Neisseria</i> türleri	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Bu tabloda gösterilen Pozitif Reaksiyon Yorumlama Değerleri gerçek yüzdelere değildir, yayınlanmış verilere ve MicroScan sonuçlarına dayalı temsillerdir.
2. *Haemophilus influenzae* VI-1, Oberhofer biyotip sınıflandırmasının Biyotipidir. *Haemophilus influenzae* VI-2, Kilian biyotip sınıflandırmasının Biyotipi VI'dir.¹⁸

Beklenen reaksiyonlar dokuz değerle ifade edilmiştir:					
Değer	Anlam	Değer	Anlam	Değer	Anlam
1	Poz. Çok Nadir Reaksiyon	25	Reaksiyonun Çoğunluğu Negatif	90	Neg. Yaygın Olmayan Reaksiyon
5	Poz. Nadir Reaksiyon	50	Poz. veya Neg. Reaksiyon	95	Neg. Nadir Reaksiyon
10	Poz. Yaygın Olmayan Reaksiyon	75	Reaksiyonun Çoğunluğu Pozitif	99	Neg. Çok Nadir Reaksiyon

KALİTE KONTROL

Kültür saflığı, inokülüm süspansiyonundan uygun agar ortamına alt kültürleme yoluyla kontrol edilmelidir. Test sonuçları, karma bir kültürün tespit edilmesi durumunda geçersizdir. Tanımlama ortamının kabul edilebilirliği, aşağıdaki suşlarla test edilerek kontrol edilebilir: (Tablo 4.)

Tablo 4

Kalite Kontrol Tablosu

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. *Neisseria mucosa* ATCC 49233 ile pozitif sonuç elde edilebilir.

2. *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130 ile pozitif sonuç elde edilebilir.

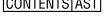
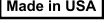
3. *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145 ile pozitif sonuç elde edilebilir.

GARANTİ BEYANI

Sistem veya reaktifler için yapılan sözleşmeniz dahilinde sistem, garanti hükümleri kapsamındadır ve bu hükümlere tabidir. Müşteri rutin koruyucu bakım prosedürlerini gerçekleştirmekten sorumludur. Belirtilen zaman aralıklarında bu bakım prosedürlerinin gerçekleştirilmemesi nedeniyle ortaya çıkan onarımlar, Beckman Coulter'in kararına bağlı olarak ve masraflar müşteri tarafından karşılanacak şekilde yapılır.

Sembol Anahtarı

Sembol Anahtarı			
Sembol	Sembol Başlığı	Standardın Açıklaması	Standart
	Tekrar kullanmayın	Bir kez kullanılması ya da tek bir hastada tek bir prosedürde kullanılması amaçlanan medikal cihazı belirtir.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Son kullanma tarihi	Medikal cihazın sonrasında kullanılamayacağı tarihi belirtir.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Seri Kodu	Parti veya lot tanımlanabilecek şekilde üreticinin parti numarasını belirtir.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Katalog Numarası	Medikal cihazın tanımlanabilmesi için üreticinin katalog numarasını belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.1.6
	Üretici	AB Yönetmelikleri 90/385/EEC, 93/42/EEC ve 98/79/EC'de tanımlandığı şekilde medikal cihaz üreticisini belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.1.1
	Üretim Tarihi	Medikal cihazın üretildiği tarihi belirtir.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi	Avrupa Topluluğu yetkili temsilcisini belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.1.2
	<n> sayıda test için yeterlidir	IVD'yle gerçekleştirilebilecek toplam IVD testi sayısını belirtir. (Genellikle reaktif kitlerine dahildir).	ISO 15223-1; 5.5.5
	In Vitro Diyagnostik Medikal Cihaz	In vitro diyagnostik medikal cihaz olarak kullanılmak üzere tasarlanmış medikal cihazı belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.5.1

Sembol Anahtarı			
Sembol	Sembol Başlığı	Standartın Açıklaması	Standart
	Sıcaklık Kısıtlaması	Medikal cihazın güvenli bir şekilde maruz kalabileceği sıcaklık sınırlarını belirtir.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Kullanma Talimatına Başvurun	Kullanıcının kullanma talimatına başvurması gerektiğini belirtir.	ISO 15223-1; 5.4.3
	CE İşareti	Avrupa Uyumu Düzenleyici İşareti	uygulanamaz
	İçindekiler	uygulanamaz	uygulanamaz
	İçerik (paket)	Antimikrobiyal Ajan (kısaltma)	uygulanamaz
	İçerik (paket)	Tanımlama Substratı (kısaltma)	uygulanamaz
	Güvenlik Bilgi Formu	Güvenlik bilgi formunu belirtir.	uygulanamaz
	Made in USA	uygulanamaz	uygulanamaz
	Sadece İhracat Amaçlı Kullanım İçindir	uygulanamaz	uygulanamaz
	Sulandırma Hacmi	uygulanamaz	uygulanamaz
	Kırılabilir, dikkatli tutun	Medikal cihazın dikkatli taşınmaması halinde kırılabileceğini veya hasar görebileceğini belirtir.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Bu kısım yukarıya gelecektir	Doğru dikey konumu belirtir	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Medikal cihazlar — Medikal Cihaz Etiketleriyle kullanılacak semboller, Etiketleme ve Temin Edilecek Bilgiler. 1. Bölüm: Genel Gereklilikler).			

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

MicroScan

Практическое руководство HNID

REF B1012-10B

НАЗНАЧЕНИЕ

Система HNID предназначена для быстрой идентификации и выявления производства β-лактамазы, вырабатываемой бактериями рода *Neisseria*, рода *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* и *Gardnerella vaginalis*. Также может проводиться определение биотипа *Haemophilus influenzae* и *Haemophilus parainfluenzae*.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПРИНЦИПЫ РАБОТЫ

Для идентификации прихотливых грамотрицательных кокков и бацилл используются модифицированные стандартные и хромогенные тесты.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} В специальном бульоне для инокуляции готовят суспензию исследуемого микроорганизма с мутностью 3 по МакФарланду. Панель HNID регидратируют и инокулируют из бульона, а затем инкубируют в течение 4 часов. Интерпретация идентификации осуществляется на основе изменений pH и утилизации определенных субстратов или других биохимических реакций после инкубации. Для обнаружения фермента β-лактамазы используют быстрый ацидиметрический метод.^{13,14,15}

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Панели HNID и реагенты предназначены только для *in vitro* диагностики. Не допускайте попадания в глаза, на кожу или на одежду пептидазного реагента или индольного реагента HNID. При работе с представляющим опасность микробиологическим материалом соблюдайте правила асептики и установленные меры предосторожности при выполнении процедуры, обращая особое внимание на наличие в инокулированных планшетах потенциально патогенных микроорганизмов.

ХРАНЕНИЕ

Хранить при температуре 2–8°C. Если после регидратации бульоном для инокуляции HNID любой субстрат показывает положительную реакцию, планшет необходимо утилизировать. Положительные цветные реакции указаны в таблице для интерпретации результатов биохимических реакций.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте techdocs.beckmancoulter.com

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Образцы должны собираться, транспортироваться и высеваться на питательные среды для первичной изоляции в соответствии с методиками, рекомендованными в *Manual of Clinical Microbiology* (Руководство по клинической микробиологии).¹⁶

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Панель HNID (B1012-10B)

Практическое руководство

Кодовая книга HNID для определения биотипов

Бланк регистрации

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Бульон для инокуляции HNID (B1015-16)

Пептидазный реагент (B1012-30B)

Лоток-крышка (B1010-56B)

Минеральное масло, 60 мл (B1010-40)

Минеральное масло, 250 мл (B1010-40A) — ТОЛЬКО для использования с приборами WalkAway SI (и приборами WalkAway с дополнительной функцией автоматического наслоения масла)

0,5% раствор N,N-диметил-α-нафтиламина (B1010-45A)

Индольный реагент HNID (B1015-15)

0,8%-ный раствор сульфаниловой кислоты (B1010-44A)

Пипеттор для объема 50 мкл со стерильными наконечниками

Стерильные деревянные палочки для нанесения или стерильные петли для инокуляции

Стандарт мутности 3 по Макфарланду на основе сульфата бария

Стандарт мутности 4 по Макфарланду на основе сульфата бария

Вихревая мешалка

Инкубатор без CO₂ для температуры 35–37°C

Микроорганизмы для контроля качества:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

ПРОЦЕДУРА

1. Подготовка планшетов

Извлеките панель из холодильника и **немедленно** извлеките ее из фольгированного пакета. **Не используйте панели в случае отсутствия или повреждения влагопоглотителя или при нарушении целостности упаковки (упаковка вскрыта, проколота или разорвана).** Перед использованием выдержите панель и бульон для инокуляции HNID до достижения комнатной температуры. Панели можно складывать в стопку, накрыв сверху чистым лотком-крышкой.

2. Приготовление микроорганизма

С помощью стерильной палочки для нанесения или стерильной петли для инокуляции перенесите достаточное количество схожих по форме колоний из чашки с культурой для первичной изоляции (кровяной или шоколадный агар, агар GV или агар Тайера — Мартина), культивируемой в течение 18–24 часов, в бульон для инокуляции HNID для достижения мутности, сопоставимой со стандартом мутности 3 по МакФарланду на основе сульфата бария. Для бактерий рода *Neisseria* желательно использовать стандарт мутности 4 по МакФарланду на основе сульфата бария. Перед инокуляцией панели интенсивно перемешайте бульон для инокуляции. Для инокуляции панелей HNID не допускается использовать стандарт мутности менее 3 по МакФарланду на основе сульфата бария.

3. Инокуляция

В каждую отмеченную лунку панели HNID добавьте по 50 мкл (0,05 мл) бульона для инокуляции. Используйте пипеттор для объема 50 мкл со стерильным наконечником. После инокуляции каждой панели MicroScan рекомендуется пересев 1 капли избытка бульона для инокуляции на подходящей среде для проверки чистоты.

ПРИМЕЧАНИЕ. Для использования планшета с системами autoSCAN-4 и WalkAway необходимо также регидрировать лунку LOC.

4. Слои масла для проведения биохимической реакции

С помощью флакона-капельницы в лунку URE внесите 2–3 капли минерального масла. Среда в лунке должна быть полностью покрыта минеральным маслом, однако лунка не должна быть переполнена.

ПРИМЕЧАНИЕ. Анализаторы WalkAway SI (и анализаторы WalkAway с дополнительной функцией автоматического наложения масла) автоматически добавляют масло в лунку URE.

5. Инкубация

Инкубируйте инокулированную панель в течение 4 часов при температуре 35–37°C в инкубаторе без CO₂. Сложите панели стопками по 4–5 штук в каждой, а верхнюю панель накройте крышкой для предотвращения испарения.

6. Визуальное считывание панели или считывание с использованием touchSCAN

A. После инкубации в течение 4 часов при температуре 35–37°C в первую очередь считываются результаты с тех лунок, в которые не требуется добавление реагентов (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA и BL).

B. Добавьте реагенты следующим образом:

a. PRO, NGL, ZAR

Добавьте 1 каплю пептидазного реагента в лунки PRO, NGL и ZAR. Подождите 3–5 минут до развития цветной реакции.

b. NO₃, NO₂

В лунки NO₃ и NO₂ добавьте 1 каплю 0,8% раствора сульфаниловой кислоты и 1 каплю 0,5% раствора N,N-диметил-α-нафтиламина. Подождите 3–5 минут до развития цветной реакции.

с. IND

В лунку IND добавьте 1–2 капли индольного реагента HNID. Окраска появится немедленно.

- С. Интерпретируйте реакции в соответствии с таблицей для интерпретации результатов биохимических реакций и зарегистрируйте результаты в предоставленном бланке регистрации, либо введите данные по положительным реакциям с использованием считывающего устройства touchSCAN.

Таблица 1. Субстраты

Субстраты	Сокр.	Субстраты	Сокр.
Индоксилфосфат	IDX	Мочевина	URE
Нитрат	NO ₃	Орнитин	ORN
Нитриты	NO ₂	Индол	IND
Глюкоза	GLU	L-пролил-β-нафтиламид	PRO
Сахароза	SUC	N-γ-L-глутамил-β-нафтиламид	NGL
Мальтоза	MAL	N-α-бензоил-DL-Аргинин-β-нафтиламид	ZAR
Фруктоза	FRU	p-нитрофенил-α-D-глюкозид	AGL
Лактоза	LAC	Крахмал	STA
o-нитрофенил-β-D-галактозид	GAL	β-лактамаза (пенициллин)	BL

7. Считывание панели autoSCAN-4

- A. После инкубации в течение 4 часов при температуре 35–37°C и до добавления реагентов внесите минеральное масло в лунки GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA и BL.
- B. Добавьте реагенты следующим образом:
- PRO, NGL, ZAR
Добавьте 1 каплю пептидазного реагента в лунки PRO, NGL и ZAR. Подождите 3–5 минут до развития цветной реакции.
 - NO₃, NO₂
В лунки NO₃ и NO₂ добавьте 1 каплю 0,8% раствора сульфаниловой кислоты и 1 каплю 0,5% раствора N,N-диметил-α-нафтиламина. Подождите 3–5 минут до развития цветной реакции.
 - IND
В лунку IND добавьте 1–2 капли индольного реагента HNID. Окраска появится немедленно.
- C. После того, как проявится каждая реакция в течение соответствующего промежутка времени, вставьте панель в прибор autoSCAN-4 для считывания результатов.

8. Считывание панели системами WalkAway

- A. После инкубации в течение 4 часов в первую очередь считываются результаты с тех лунок, в которые не требуется добавление реагентов для теста (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA и BL).
- B. После этого система WalkAway добавляет необходимые реагенты в следующие лунки: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ и IND. Затем эти реакции интерпретируются.

ПРИМЕЧАНИЕ. Система WalkAway в первую очередь считывает лунки, в которые не требуется добавление реагентов, для предотвращения искажения результатов вследствие скопления паров реагентов, удерживаемых под крышкой панели. Таким образом, биохимические реакции не могут подтверждаться вручную.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Таблица 2

Таблица для интерпретации результатов биохимических реакций

Лунка	Положительный	Отрицательный	Примечания
IDX	Осадок от синего до серого цвета	Прозрачный	
NO ₃	Розовый, от красного до пурпурного	От прозрачного (бесцветного) до желтого	Результаты регистрируют через 3–5 минут.

Таблица для интерпретации результатов биохимических реакций

Лунка	Положительный	Отрицательный	Примечания
NO ₂	От прозрачного (бесцветного) до желтого	Розовый, от красного до пурпурного	Результаты регистрируют через 3–5 минут.
GLU SUC LAC	От оранжевого до желтого	От красного до красно-оранжевого	Любой оттенок красного цвета следует регистрировать как отрицательный результат.
FRU	От желтого до желто-оранжевого	От красного до оранжевого	Любой оттенок желтого цвета следует регистрировать как положительный результат.
MAL	Желтый	От красного до желто-оранжевого	
GAL	Желтый	Прозрачный	Бледно-желтая окраска является положительным результатом. Перед добавлением реагента используйте лунку IND в качестве отрицательного контроля.
URE	От красного до пурпурного	От желтого до бледно-розового	
ORN	От зеленого до синего	От желтого до желто-зеленого	Любой оттенок желтого цвета следует регистрировать как отрицательный результат.
IND	Красное кольцо	Желтый	Любой оттенок красного цвета следует регистрировать как положительный результат.
PRO NGL ZAR	От красного до пурпурного	От желтого до оранжевого	Результаты должны регистрироваться в течение 3–5 минут. Вуалеобразное помутнение указывает на слабую реакцию ZAR.
AGL	Желтый	Прозрачный	Любой оттенок желтого цвета следует регистрировать как положительный результат. Перед добавлением реагента используйте лунку IND в качестве отрицательного контроля.
STA BL	От желтого до желто-оранжевого	От красного до оранжевого	Любой оттенок желтого цвета должен считаться положительным результатом.
LOC	Для считывания панелей с использованием систем autoSCAN-4 и WalkAway		

Реакции

Индоксилфосфатаза (IDX) — щелочная фосфатаза расщепляет индоксилфосфат до индоксила, который присоединяет молекулу кислорода с образованием нерастворимого соединения синего цвета.

Нитрат (NO₃) — способность микроорганизма восстанавливать нитрат в нитрит выявляется при добавлении сульфаниловой кислоты и N,N-диметил-α-нафтиламина, который в присутствии нитрита вызывает красное окрашивание.

Нитрит (NO₂) — способность организма восстанавливать нитрит до газообразного азота выявляется при добавлении сульфаниловой кислоты, а затем N,N-диметил-α-нафтиламина. В присутствии нитрита появляется красный цвет, что является отрицательным результатом. Если не появляется никакой окраски, это означает, что нитрит восстановился, и результат является положительным.

Утилизация углеводов (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) — утилизация определенного углевода приводит к образованию кислоты с последующим снижением pH, что определяется с помощью индикатора фенолового красного.

β-галактозидаза (GAL) — β-галактозидаза гидролизует о-нитрофенил-β-D-галактопиранозид с высвобождением о-нитрофенола, имеющего желтый цвет.

α-глюкозидаза (AGL) — α-глюкозидаза гидролизует п-нитрофенил-α-D-глюкозид с высвобождением п-нитрофенола, имеющего желтый цвет.

Мочевина (URE) — фермент уреазы расщепляет мочевину с образованием аммиака, вызывающего повышение pH, что определяется с помощью индикатора фенолового красного.

Орнитин (ORN) — декарбоксилирование орнитина приводит к ощелачиванию среды, что определяется с помощью pH-индикатора бромтимолового синего.

Индол (IND) — в результате метаболизма триптофана образуется индол, который обнаруживается при добавлении индольного реагента HNID. В присутствии индола образуется красное кольцо.

Пептидазы (PRO, NGL, ZAR) — способность микроорганизма вырабатывать определенную пептидазу определяется расщеплением связи между соответствующей аминокислотой и β-нафтиламидом. Затем свободный β-нафтиламид

выявляется при образовании комплекса с п-диметиламинокоричным альдегидом, что приводит к появлению цвета от красного до пурпурного.

β-лактамаза (BL) — пенициллин G под действием β-лактамазы распадается с образованием пенициллоиловой кислоты. Изменение pH определяется с помощью индикатора фенолового красного.

Идентификация микроорганизмов

Для идентификации неизвестных исследуемых микроорганизмов используется кодовая книга HNID для определения биотипов MicroScan. Эта кодовая книга создана на основе базы данных MicroScan, в которую вошли результаты тестов на панелях HNID.

Кодовая книга биотипов предусматривает компьютерный анализ 17 тестов для идентификации неизвестных микроорганизмов. Результаты тестов преобразуются в 6-значный «номер биотипа», для которого в кодовой книге указан список наименований микроорганизмов, а также относительная вероятность их идентификации. Процедура для создания номера биотипа изложена в кодовой книге биотипов HNID. Если для номера биотипа указан только один микроорганизм, относительная вероятность составляет 99,9%. Если для определенного номера биотипа возможно соответствие нескольким микроорганизмам, распечатывается список всех возможных наименований с указанием относительных вероятностей, начиная с наиболее высокой; при этом совокупная вероятность составляет 99,9%.

Если номер биотипа в кодовой книге отсутствует, рекомендуется повторить тест с использованием свежеприготовленной культуры. Если при повторном тестировании результаты не изменяются, следует воспользоваться функциями сервисной программы Biotype Lookup на веб-сайте компании Beckman Coulter или обратиться к местному дистрибьютору.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. Если для определенного номера биотипа в списке идентифицированных видов указано несколько наименований, то для правильной идентификации, возможно, потребуются дополнительные тесты. Следует также провести тестирование на соответствие другим критериям, например, оценку факторов X и V и аэротолерантности.
2. Данная панель предназначена только для бактерий рода *Haemophilus*, рода *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* и *Gardnerella vaginalis*. Не используйте этот планшет для тестирования других микроорганизмов-кокков.
3. Результаты тестов по идентификации микроорганизмов должны интерпретироваться обученным клиническим персоналом с использованием имеющихся знаний и выполнением при необходимости дополнительных подтверждающих тестов до того, как принимается окончательное заключение по идентификации. См. примечания, указанные в кодовой книге биотипов HNID или в Microbiology Information Manual (Справочное руководство по микробиологии).
4. Номера биотипов не следует использовать для фенотипической идентификации штаммов, выделенных из различных образцов от одного пациента.
5. В руководстве CLSI M7-A7, т. 26, № 2 для тестирования *Branhamella catarrhalis* рекомендуется использовать тест на β-лактамазу с нитроцефином.¹⁷
6. Группы биотипов для бактерий рода *Haemophilus* не соотносятся с серотипами, т. е. *Haemophilus influenzae* II может и не относиться к группе B. Серотипирование является обязательным.
7. Иногда некоторые штаммы *N. meningitidis* не вырабатывают кислоту из мальтозы. Такие штаммы могут быть ошибочно идентифицированы как *N. gonorrhoeae*, если лунка NGL также дает отрицательную реакцию. См. примечания, указанные в кодовой книге биотипов HNID или в Microbiology Information Manual (Справочное руководство по микробиологии).
8. Изоляты *H. haemolyticus*, выращенные на шоколадном агаре, могут быть ошибочно идентифицированы как *H. influenzae*. Для распознавания *H. haemolyticus* и *H. influenzae* может использоваться гемолиз на агаре с лошадиной кровью.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Ожидаемые результаты для каждого теста и каждого вида указаны в таблице с процентной долей положительных реакций на планшете HNID. (См. Таблицу 3.)

Таблица 3 Таблица вероятностей Процентная доля положительных реакций на планшете HNID ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1

Таблица 3 Таблица вероятностей Процентная доля положительных реакций на планшете HNID ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>H. parainfluenzae III</i>	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae IV</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa (NIT +)</i>	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
Бактерии рода <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Значения интерпретаций для положительных реакций, приведенные в этой таблице, не являются фактическими процентными долями, а представляют данные, основанные на публикациях и результатах MicroScan.

2. *Haemophilus influenzae VI-1* — биотип, относящийся к системе классификации биотипов Oberhofer. *Haemophilus influenzae VI-2* — биотип VI из системы классификации биотипов Kilian.¹⁸

Категорийность ожидаемых реакций выражена девятью величинами:					
Величина	Значение	Величина	Значение	Величина	Значение
1	Положительная реакция наблюдается очень редко	25	В большинстве случаев наблюдается отрицательная реакция	90	Отрицательная реакция наблюдается нечасто
5	Положительная реакция наблюдается редко	50	Положительная или отрицательная реакция	95	Отрицательная реакция наблюдается редко
10	Положительная реакция наблюдается нечасто	75	В большинстве случаев наблюдается положительная реакция	99	Отрицательная реакция наблюдается очень редко

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Чистоту культуры следует проверять пересевом из суспензии инокулята на подходящей агаровой среде. В случае выявления смешанной культуры результаты теста считаются недействительными. Пригодность сред для идентификации может проверяться тестированием со следующими штаммами: (Таблица 4.)

Таблица 4

Таблица контроля качества

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Положительный результат может быть получен с использованием *Neisseria mucosa* ATCC 49233.

2. Положительный результат может быть получен с использованием *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.

3. Положительный результат может быть получен с использованием *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

На систему распространяются положения гарантии, включенной в договор на систему или реагенты для нее. Покупатель несет ответственность за проведение планового профилактического технического обслуживания. Проведение ремонтных работ, являющихся следствием невыполнения такого технического обслуживания в установленные временные интервалы, осуществляется по усмотрению Beckman Coulter и за счет покупателя.

Ключ символов

Ключ символов			
Символ	Название символа	Описание стандарта	Стандарт
	Запрет на повторное применение	Обозначает медицинское изделие, предназначенное для одноразового применения или для применения одним пациентом в ходе одной процедуры.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Срок годности	Обозначает дату, после наступления которой не следует использовать данное медицинское изделие.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Код партии	Обозначает код серии производителя, позволяющий идентифицировать серию или партию.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Номер по каталогу	Обозначает номер по каталогу производителя, позволяющий идентифицировать медицинское изделие.	ISO 15223-1, пункт 5.1.6
	Изготовитель	Обозначает производителя медицинского изделия согласно Директивам ЕС 90/385/ЕЕС, 93/42/ЕЕС и 98/79/ЕС.	ISO 15223-1, пункт 5.1.1
	Дата производства	Обозначает дату изготовления медицинского изделия.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Уполномоченный представитель в Европейском сообществе	Обозначает уполномоченного представителя в странах Европейского сообщества.	ISO 15223-1, пункт 5.1.2
	Содержимое рассчитано на <n> тестов	Обозначает общее количество IVD (диагностических тестов in vitro), которые можно выполнить с помощью медицинского изделия для IVD (диагностики in vitro). (Стандартное количество для набора реагентов).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>	Обозначает медицинское изделие, предназначенное для использования при диагностике <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, пункт 5.5.1

Ключ символов			
Символ	Название символа	Описание стандарта	Стандарт
	Температурные ограничения	Обозначает предельные температуры, не оказывающие опасного воздействия на медицинское изделие.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Обратитесь к Инструкции по применению	Обозначает, что пользователь должен ознакомиться с инструкциями по применению.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Маркировка CE	Отметка о соответствии стандартам качества ЕС	неприменимо
	Содержание	неприменимо	неприменимо
	Содержимое (упаковка)	Антибактериальный препарат (сокращение)	неприменимо
	Содержимое (упаковка)	Субстрат для идентификации (сокращение)	неприменимо
	Паспорт безопасности	Обозначает паспорт безопасности.	неприменимо
	Сделано в США	неприменимо	неприменимо
	Только для экспорта	неприменимо	неприменимо
	Объем восстановления	неприменимо	неприменимо
	Хрупкое изделие: обращаться с осторожностью	Обозначает, что медицинское изделие может быть сломано или повреждено при неосторожном обращении.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Этой стороной вверх	Указывает правильное вертикальное положение	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1. Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования).			

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter в Соединенных Штатах и других странах.

MicroScan

HNID Procedural Manual (Manualul procedural HNID)

REF B1012-10B

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Sistemul HNID este conceput pentru identificarea rapidă a β -lactamazei și detectarea producției acesteia în speciile *Neisseria*, speciile *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* și *Gardnerella vaginalis*. Poate fi efectuată și biotiparea bacteriei *Haemophilus influenzae* și a bacteriei *Haemophilus parainfluenzae*.

REZUMAT ȘI PRINCIPIU

Testele modificate convenționale și cromogenice sunt utilizate pentru identificarea cocilor și bacililor Gram-negative cu creștere dificilă.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Se creează o suspensie de 3 McFarland a organismului de testat într-un bulion special de inocul. Panelul HNID este rehidratat și inoculat din bulion și incubat pentru 4 ore. După incubare, pentru identificare, se interpretează schimbarea nivelului de pH și utilizarea anumitor substraturi sau alte reacții biochimice. Pentru detectarea enzimei de β -lactamază, se utilizează o metodă acidometrică rapidă.^{13,14,15}

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

Panelurile și reactivii HNID sunt destinate exclusiv utilizării pentru diagnosticele *in vitro*. Nu permiteți ca reactivul peptidază sau reactivul indol HNID să intre în contact cu ochii, pielea sau îmbrăcămintea. Respectați tehnicile aseptice și măsurile de precauție stabilite împotriva pericolelor microbiologice pe parcursul procedurii, acordând atenție specială faptului că panelurile inoculate conțin organisme potențial patogene.

DEPOZITARE

A se depozita la 2–8°C. După rehidratarea cu bulion de inocul HNID, eliminați panelul dacă oricare dintre substraturi pare să aibă o reacție pozitivă. Pentru reacțiile de culoare pozitivă, consultați Graficul de interpretare biochimică.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la adresa techdocs.beckmancoulter.com

COLECTAREA ȘI PREPARAREA SPECIMENELOR

Eșantioanele sunt colectate și plasate pe mediile de izolare primară în conformitate cu procedurile de laborator descrise în *Manual of Clinical Microbiology* (Manualul de microbiologie clinică).¹⁶

MATERIALE FURNIZATE

Panelul HNID (B1012-10B)

Manual procedural

HNID Biotype Codebook (Lista de coduri de biotipuri HNID)

Fișă de lucru

MATERIALE NECESARE, DAR NEINCLUSE

Bulion de inocul HNID (B1015-16)

Reactiv Peptidază (B1012-30B)

Tavă de acoperire (B1010-56B)

Ulei mineral, 60 ml (B1010-40)

Ulei mineral, 250 ml (B1010-40A) – utilizabil EXCLUSIV cu instrumente WalkAway SI/ (și instrumente WalkAway modernizate cu funcția de aplicație automată de ulei)

0,5% N,N-dimetil- α -naftilamină (B1010-45A)

Reactiv indol HNID (B1015-15)

Acid sulfanilic de 0,8 % (B1010-44A)

Pipetă de 50 μ l cu vârfuri sterile

Aplicatoare din lemn sterile sau ansă de inoculare sterilă

Standard de turbiditate cu sulfat de bariu de 3 McFarland

Standard de turbiditate cu sulfat de bariu de 4 McFarland

Agitator cu turbionare pentru omogenizare

Incubator de 35–37°C, fără CO₂

Organisme de control al calității:

C29877–AB

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCEDURĂ

1. Prepararea panelurilor

Îndepărtați panelul din sistemul de refrigerare și scoateți-l *imediat* din punga de folie. **Panelurile nu trebuie utilizate dacă desicantul nu este prezent sau este rupt ori integritatea ambalajului este compromisă (desigilat, perforat sau rupt).** Înainte de utilizare, lăsați panelul și bulionul de inocul HNID să ajungă la temperatura camerei. Panelurile pot fi stivuite dacă se pune o tavă de acoperire curată peste panelul superior.

2. Pregătirea organismului

Utilizând un aplicator steril sau o ansă de inoculare sterilă, transferați suficiente colonii similare morfologic dintr-o placă de izolare primară de 18–24 de ore (agar de sânge, ciocolată, GV sau Thayer Martin) în bulionul de inocul HNID comparabil cu un standard de turbiditate cu sulfat de bariu de 3 McFarland. Pentru speciile *Neisseria*, se recomandă utilizarea unui standard de turbiditate cu sulfat de bariu de 4 McFarland. Turbionați bulionul de inocul înainte de a inocula panelul. Nu utilizați un standard de turbiditate cu sulfat de bariu mai mic de 3 McFarland pentru a inocula panelurile HNID.

3. Inoculare

Transferați 50 µl (0,05 ml) din bulionul de inocul în fiecare godeu etichetat al panelului HNID. Se recomandă utilizarea unei pipete de 50 µl cu vârf steril. După fiecare inoculare a panelului, MicroScan recomandă crearea unei subculturi dintr-o picătură din bulionul de inocul în exces pe un mediu corespunzător, pentru a verifica puritatea.

OBSERVAȚIE: pentru utilizarea cu autoSCAN-4 și sistemele WalkAway este necesară și rehidratarea godeului LOC.

4. Aplicații de ulei biochimic

Folosind un flacon cu picurător, aplicați peste godeul URE 2–3 picături de ulei mineral. Mediul din godeu trebuie să fie acoperit complet, însă godeul nu trebuie umplut excesiv.

OBSERVAȚIE: instrumentele WalkAway SI (și instrumentele WalkAway modernizate cu funcția de aplicație automată de ulei) adaugă automat ulei în godeul URE.

5. Incubarea

Incubați panelul inoculat timp de 4 ore la 35–37°C într-un incubator fără CO₂. Stivuiți panelurile în grupuri de la 4 până la 5 cu o tavă de acoperire peste panelul superior, pentru a preveni evaporarea.

6. Citirea panelului în mod vizual sau cu touchSCAN

A. După 4 ore de incubație la 35–37°C, trebuie citite întâi testele care nu necesită adăugarea de reactivi (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA și BL).

B. Adăugați reactivii după cum urmează:

a. PRO, NGL, ZAR

Adăugați 1 picătură de reactiv peptidază în godeurile PRO, NGL și ZAR. Așteptați 3–5 minute pentru ca reacția de culoare să aibă loc.

b. NO₃, NO₂

Adăugați 1 picătură de acid sulfanilic de 0,8 % și 1 picătură de N,N-dimetil-α-naftilamină de 0,5 % în godeurile NO₃ și NO₂. Așteptați 3–5 minute pentru ca reacția de culoare să aibă loc.

c. IND

Adăugați 1–2 picături de reactiv indol HNID în godeul IND. Culoarea va apărea imediat.

C. Interpretați reacțiile conform Graficului de interpretare biochimică și înregistrați rezultatele în fișa de lucru furnizată sau introduceți reacțiile pozitive prin intermediul cititorului touchSCAN.

Tabelul 1, Substraturi

Substraturi	Abrev.	Substraturi	Abrev.
Indoxil fosfat	IDX	Uree	URE
Nitrat	NO ₃	Ornitină	ORN

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Substraturi	Abrev.	Substraturi	Abrev.
Nitriți	NO ₂	Indol	IND
Glucoză	GLU	L-prolil-β-naftilamidă	PRO
Sucroză	SUC	N-γ-L-glutamil-β-naftilamidă	NGL
Maltoză	MAL	N-α-benzoil-DL-Arginină-β-naftilamidă	ZAR
Fructoză	FRU	p-nitrofenil-α-D-glucozidă	AGL
Lactoză	LAC	Amidon	STA
o-nitrofenil-β-D-galactozidă	GAL	β-lactamază (penicilină)	BL

7. Citirea panelului cu autoSCAN-4

- După 4 ore de incubare la 35–37°C, aplicați ulei mineral peste GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA și BL înainte de a adăuga reactivii.
- Adăugați reactivii după cum urmează:
 - PRO, NGL, ZAR
Adăugați 1 picătură de reactiv peptidază în godeurile PRO, NGL și ZAR. Așteptați 3–5 minute pentru ca reacția de culoare să aibă loc.
 - NO₃, NO₂
Adăugați 1 picătură de acid sulfanilic de 0,8 % și 1 picătură de N,N-dimetil-α-naftilamină de 0,5 % în godeurile NO₃ și NO₂. Așteptați 3–5 minute pentru ca reacția de culoare să aibă loc.
 - IND
Adăugați 1–2 picături de reactiv indol HNID în godeul IND. Culoarea va apărea imediat.
- După ce are loc fiecare reacție în timpul corespunzător, introduceți panelul în instrumentul autoSCAN-4 pentru citire.

8. Citirea panelului cu sisteme WalkAway

- După 4 ore de incubare, sunt citite întâi testele care nu necesită adăugarea de reactivi (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA și BL).
- Instrumentul WalkAway adaugă apoi reactivii corespunzători în următoarele godeuri: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ și IND. Aceste reacții sunt apoi interpretate.

OBSERVAȚIE: WalkAway citește godeuri care nu necesită mai întâi reactivi pentru a preveni rezultate alterate din cauza emanațiilor de reactiv care pot fi prinse sub capacul tăvii. Prin urmare, reacțiile biochimice nu pot fi verificate manual.

REZULTATE

Tabelul 2

Graficul de interpretare biochimică			
Godeu	Pozitivă	Negativ	Observații
IDX	Precipitat albastru spre gri	Limpede	
NO ₃	Roz, roșu spre magenta	Incolor spre galben	Rezultatele au fost înregistrate după 3–5 minute.
NO ₂	Incolor spre galben	Roz, roșu spre magenta	Rezultatele au fost înregistrate după 3–5 minute.
GLU SUC LAC	Portocaliu spre galben	Roșu spre roșu/portocaliu	Orice nuanță de roșu trebuie înregistrată ca rezultat negativ.
FRU	Galben spre galben/portocaliu	Roșu spre portocaliu	Orice nuanță de galben trebuie înregistrată ca rezultat pozitiv.
MAL	Galbenă	Roșu spre galben/portocaliu	
GAL	Galbenă	Limpede	Galben-deschis înseamnă un rezultat pozitiv. Utilizați godeul IND înainte de a adăuga reactivul pe post de control negativ.
URE	Roșu spre magenta	Galben spre roz-deschis	
ORN	Verde spre albastru	Galben spre galben/verde	Orice nuanță de galben trebuie înregistrată ca rezultat negativ.
IND	Inel roșu	Galbenă	Orice nuanță de roșu trebuie înregistrată ca rezultat pozitiv.
PRO NGL ZAR	Roșu spre magenta	Galben spre portocaliu	Rezultatele trebuie înregistrate în 3–5 minute. O reacție slabă în godeul ZAR este indicată de un aspect tulbure.
AGL	Galbenă	Limpede	Orice nuanță de galben trebuie înregistrată ca rezultat pozitiv. Utilizați godeul IND înainte de adăugarea reactivului pe post de control negativ.
STA BL	Galben spre galben/portocaliu	Roșu spre portocaliu	Orice nuanță de galben trebuie considerată rezultat pozitiv.
LOC	Pentru alinierea panelului în sistemele autoSCAN-4 și WalkAway		

Reacții

Indoxil fosfatază (IDX) – Fosfataza alcalină scindează indoxil fosfatul în indoxil liber care se combină cu oxigenul molecular pentru a forma un compus insolubil albastru.

Nitrat (NO₃) – Capacitatea unui organism de a reduce nitratul la nitrit este detectată prin adăugarea de acid sulfanilic și N,N-dimetil- α -naftilamină care produc o culoare roșie în prezența nitritului.

Nitrit (NO₂) – Capacitatea unui organism de a reduce nitritul la nitrogen liber sub formă de gaz este detectată prin adăugarea de acid sulfanilic și N,N-dimetil- α -naftilamină. În prezența nitritului, apare o culoare roșie, ceea ce înseamnă că rezultatul testului este negativ. Dacă nu apare nicio culoare, nitritul a fost redus, ceea ce înseamnă că rezultatul testului este pozitiv.

Utilizare de carbohidrat (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) – Utilizarea unui carbohidrat specific rezultă în formare de acid însoțită de scăderea nivelului de pH semnalată de indicatorul roșu de fenol.

β -galactozidază (GAL) – β -galactozidaza hidrolizează o-nitrofenil- β -D-galactopiranozida care eliberează o-nitrofenolul de culoare galbenă.

α -glucozidază (AGL) – α -glucozidaza hidrolizează p-nitrofenil- α -D-glucozida care eliberează p-nitrofenolul de culoare galbenă.

Uree (URE) – Enzima de urează scindează ureea formând amoniac, reacție însoțită de creșterea nivelului de pH detectată de indicatorul roșu de fenol.

Ornitină (ORN) – Decarboxilarea ornitinei rezultă în alcalinizarea mediului care se detectează prin indicatorul de pH albastru de bromtimol.

Indol (IND) – Metabolismul triptofanului rezultă în formarea de indol, care este detectat prin adăugarea reactivului indol HNID. Dacă indolul este prezent, se formează un inel roșu.

Peptidaze (PRO, NGL, ZAR) – Capacitatea unui organism de a produce o anumită enzimă de peptidază este determinată prin scindarea aminoacidului corespunzător de legătura sa cu β -naftilamida. β -naftilamida liberă este apoi detectată prin crearea unui complex cu p-dimetilaminocinamaldehida, producând o culoare roșie spre magenta.

β -lactamază (BL) – Penicilina G este descompusă de β -lactamază în acid peniciloic. Schimbarea de pH este detectată de un indicator roșu de fenol.

Identificarea organismelor

MicroScan HNID Biotype Codebook (Lista de coduri de biotipuri HNID MicroScan) se utilizează pentru identificarea organismelor de test necunoscute. Această listă de coduri a fost generată din baza de date MicroScan care conține informații compilate din teste de pe panelul HNID.

Biotype Codebook (Lista de coduri de biotipuri) permite analiza computerizată a 17 teste, pentru a identifica organismele necunoscute. Aceste teste sunt translatate în „numere de biotip” cu 6 cifre, pentru care lista de coduri tipărește organismul identificat și probabilitatea relativă a acestuia. Consultați HNID Biotype Codebook (Lista de coduri de biotipuri HNID) pentru procedura de generare a unui număr de biotip. Când se tipărește doar un organism pentru un număr de biotip, probabilitatea relativă este de 99,9%. Dacă este posibilă identificarea mai multor specii pentru un anumit număr de biotip, toate posibilitățile sunt tipărite începând cu cea mai mare probabilitate până la probabilitatea totală cumulată de 99,9%.

Dacă apare un număr de biotip care nu există în lista de coduri, vă recomandăm să repetați testul utilizând o cultură nouă. Dacă retestarea generează aceleași rezultate, consultați Serviciul de căutare a biotipurilor de pe site-ul Beckman Coulter sau luați legătura cu distribuitorul local.

LIMITARE A PROCEDURII

1. Dacă se tipăresc mai multe identificări de specii pentru un anumit număr de biotip, pot fi necesare teste suplimentare pentru identificarea corectă. De asemenea, trebuie efectuate și alte teste, cum ar fi cea pentru depistarea factorilor X și V și a aerotoleranței.
2. Numai speciile *Haemophilus*, speciile *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* și *Gardnerella vaginalis* pot fi testate – nu utilizați acest produs pentru alte organisme cocobacilare.
3. Interpretarea rezultatelor testelor trebuie efectuată de personal clinic instruit, care va apela la capacitatea sa de a decide, la cunoștințele sale și la teste de confirmare suplimentare, când acestea sunt necesare, înainte de a accepta identificarea unui organism. Consultați notele de subsol din HNID Biotype Codebook (Lista de coduri de biotipuri HNID) sau Microbiology Information Manual (Manualul de informații de microbiologie).
4. Numerele biotipurilor nu trebuie utilizate pentru identificarea fenotipică a tulpinilor izolate din diferite eșantioane de la același pacient.
5. Prin instrucțiunile M7-A7 CLSI, vol. 26, nr. 2, se recomandă utilizarea unui test de β -lactamază pe bază de nitrocefină pentru detectarea bacteriei *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
6. Grupurile de biotipuri pentru *Haemophilus* sp. nu corelează cu serotipurile, de exemplu, *Haemophilus influenzae* II nu face parte cu siguranță din grupul B. Trebuie efectuată tiparea serologică.

7. Ocazional, anumite tulpini ale bacteriei *N. meningitidis* nu produc acid din maltoză. Aceste tulpini pot genera o identificare incorectă a bacteriei *N. gonorrhoeae* dacă și godeul NGL este negativ. Consultați notele de subsol din HNID Biotype Codebook (Lista de coduri de biotipuri HNID) sau Microbiology Information Manual (Manualul de informații de microbiologie).
8. Izolatele de *H. haemolyticus* cultivate pe agar de ciocolată pot fi identificate incorect ca *H. influenzae*. Hemoliza pe agar de sânge de cal poate fi utilizată pentru diferențierea bacteriei *H. haemolyticus* de bacteria *H. influenzae*.

VALORI PRECONIZATE

Pentru rezultatele preconizate în cazul fiecărui test și al fiecărei specii, consultați graficul Reacții pozitive HNID în procente. (Consultați Tabelul 3.)

Tabelul 3 Graficul de probabilitate Reacții pozitive HNID în procente ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae I</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae II</i>	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae III</i>	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae IV</i>	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae V</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-1²</i>	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-2²</i>	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae I</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae II</i>	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae III</i>	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae IV</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. arophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa (NIT +)</i>	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
Speciile <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Valorile de interpretare a reacțiilor pozitive indicate în acest tabel nu sunt procentele efective, ci reprezentații bazate pe date publicate și rezultatele MicroScan.
2. *Haemophilus influenzae VI-1* este biotipul din clasificarea Oberhofer a biotipurilor. *Haemophilus influenzae VI-2* este biotipul VI din clasificarea Kilian a biotipurilor.¹⁸

Reacțiile preconizate au fost exprimate prin nouă valori:					
Valoare	Semnificație	Valoare	Semnificație	Valoare	Semnificație
1	Reacție pozitivă foarte rară	25	Majoritatea reacțiilor sunt negative	90	Reacție negativă neobișnuită
5	Reacție pozitivă rară	50	Reacție pozitivă sau negativă	95	Reacție negativă rară
10	Reacție pozitivă neobișnuită	75	Majoritatea reacțiilor sunt pozitive	99	Reacție negativă foarte rară

CONTROLUL CALITĂȚII

Puritatea culturii trebuie verificată prin subcultivarea suspensiei de inocul pe un mediu de agar corespunzător. Rezultatele testului sunt nevalide dacă se detectează o cultură combinată. Acceptabilitatea mediului de identificare poate fi verificată prin testarea cu următoarele tulpini (Tabelul 4):

Tabelul 4

Diagramă de control al calității

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Un rezultat pozitiv poate fi obținut cu *Neisseria mucosa* ATCC 49233.
2. Un rezultat pozitiv poate fi obținut cu *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.
3. Un rezultat pozitiv poate fi obținut cu *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

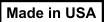
DECLARAȚIE DE GARANȚIE

Sistemul beneficiază de garanția inclusă în acordul dvs. contractual pentru sistem sau reactivii acestuia și face obiectul prevederilor acesteia. Clientul este responsabil pentru procedurile de întreținere preventive de rutină. Reparațiile rezultate în urma neefectuării acestor proceduri de întreținere la intervalele de timp indicate vor fi efectuate la discreția Beckman Coulter și pe cheltuiala clientului.

Cheie simboluri

Cheie simboluri			
Simbol	Titlu simbol	Descrierea standardului	Standard
	Nu reutilizați	Indică un dispozitiv medical care este destinat pentru o singură utilizare sau pentru utilizare pe un singur pacient în timpul unei singure proceduri.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Data expirării	Indică data după care dispozitivul medical nu mai trebuie utilizat.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Cod de lot	Indică codul de lot al producătorului pentru identificarea lotului sau seriei.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Număr catalog	Indică numărul de catalog al producătorului pentru identificarea dispozitivului medical.	ISO 15223-1, clauza 5.1.6
	Producător	Indică producătorul dispozitivului medical așa cum este definit în Directivele UE 90/385/CEE, 93/42/CEE și 98/79/CE.	ISO 15223-1, clauza 5.1.1
	Data fabricației	Indică data fabricării dispozitivului medical.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană	Indică reprezentantul autorizat în Comunitatea Europeană.	ISO 15223-1, clauza 5.1.2
	Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste	Indică numărul total de teste IVD care pot fi efectuate cu IVD-ul. (Mențiunea apare, de obicei, pe seturile de reactivi).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>	Indică un dispozitiv medical destinat utilizării ca dispozitiv medical de diagnosticare <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, clauza 5.5.1
	Limitare de temperatură	Indică limitele de temperatură la care dispozitivul poate fi expus în siguranță.	ISO 15223-1; 5.3.7

Cheie simboluri

Simbol	Titlu simbol	Descrierea standardului	Standard
	Consultați Instrucțiunile de utilizare	Indică necesitatea consultării instrucțiunilor de utilizare de către utilizator.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Marcaj CE	Marcaj de reglementare Conformitate europeană	N/A
	Cuprins	N/A	N/A
	Conținut (ambalaj)	Agent antimicrobian (abreviere)	N/A
	Conținut (ambalaj)	Substrat de identificare (abreviere)	N/A
	Fișă tehnică de securitate	Indică o fișă tehnică de securitate.	N/A
	Fabricat în SUA	N/A	N/A
	Numai pentru utilizare de export	N/A	N/A
	Volum de reconstituire	N/A	N/A
	Fragil, manipulați cu grijă	Indică un dispozitiv medical care se poate sparge sau poate fi deteriorat dacă nu este manipulat cu atenție.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Cu această parte în sus	Indică poziția verticală corectă	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices – Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Dispozitive medicale – Simboluri pentru utilizare cu etichete de dispozitive medicale, etichetare și informații care trebuie furnizate. Partea 1: Cerințe generale).			

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

MicroScan

„HNID Procedural Manual“ (HNID proceduralno uputstvo)

REF B1012-10B

NAMENA

HNID sistem je namenjen za brzu identifikaciju i detekciju stvaranja β -laktamaze u vrsti *Neisseria*, vrsti *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* i *Gardnerella vaginalis*. Moguće je obaviti i biotipizaciju *Haemophilus influenzae* i *Haemophilus parainfluenzae*.

KRATAK PREGLED I PRINCIP

Modifikovani konvencionalni i hromogeni testovi koriste se za identifikaciju zahtevnih gram negativnih koka i bacila.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Mekfarlandova suspenzija 3 za organizam koji treba testirati izrađena je od posebnog bujona za inokulum. HNID panel je rehidriran i inokulisan iz bujona i inkubiran tokom 4 sata. Nakon inkubacije, promene u pH vrednosti i upotreba određenih supstrata ili drugih biohemijskih reakcija tumače se radi identifikacije. Brzi acidometrijski metod se koristi za detekciju enzima β -laktamaze.^{13,14,15}

UPOZORENJE I MERE OPREZA

HNID paneli i reagensi su namenjeni samo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu. Ne dozvolite da reagens za peptidazu ili HNID reagens za indol dođu u kontakt sa očima, kožom ili odećom. Pridržavajte se aseptičkih tehnika i utvrđenih mera predostrožnosti protiv mikrobioloških opasnosti tokom cele procedure, uz posebnu napomenu da inokulisani paneli sadrže potencijalno patogene organizme.

ČUVANJE

Čuvati na temperaturi između 2–8°C. Nakon rehidratacije HNID bujonom za inokulum, bacite panel ako izgleda da u bilo kom supstratu postoji pozitivna reakcija. Pozitivne reakcije na boju potražite u Biohemijskom dijagramu za tumačenje.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno



Bezbednosni list je dostupan na internet adresi techdocs.beckmancoulter.com

PRIKUPLJANJE I PRIPREMA UZORAKA

Uzorke treba prikupiti i staviti na primarni izolacioni medijum prema laboratorijskim procedurama koje se preporučuju u dokumentu *Manual of Clinical Microbiology (Uputstvo za kliničku mikrobiologiju)*.¹⁶

ISPORUČENI MATERIJALI

HNID panel (B1012-10B)

Proceduralno uputstvo

„HNID Biotype Codebook“ (HNID šifarnik biotipova)

Radni list

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

HNID bujon za inokulum (B1015-16)

Reagens za peptidazu (B1012-30B)

Poklopac posude (B1010-56B)

Mineralno ulje, 60 ml (B1010-40)

Mineralno ulje, 250 ml (B1010-40A) - Za upotrebu SAMO sa WalkAway SI instrumentima (i WalkAway instrumentima nadograđenim automatskom funkcijom prekrivanja uljem)

0,5% N, N-dimetil- α -naftilamin (B1010-45A)

HNID reagens za indol (B1015-15)

0,8% sulfinska kiselina (B1010-44A)

Pipetor od 50 μ l sa sterilnim nastavcima

Sterilni drveni štapić aplikatora ili sterilna petlja za inokulaciju

Mekfarlandov standard zamućenosti barijum sulfata 3

Mekfarlandov standard zamućenosti barijum sulfata 4

Vrtložna mešalica

Ne-CO₂ inkubator temperature 35–37°C

Organizmi za kontrolu kvaliteta:

C29877–AB

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

POSTUPAK

1. Priprema panela

Uklonite panel iz frižidera i *odmah* ga uklonite iz kesice sa folijom. **Paneli se ne smeju koristiti ako desikant nije prisutan ili ako je slomljen ili ako je celovitost pakovanja ugrožena (otpečaćena, probušena ili pocepana).** Pre upotrebe sačekajte da se panel i HNID bujon za inokulum izjednače sa sobnom temperaturom. Paneli mogu biti složeni sa čistim poklopcem posude na vrhu.

2. Priprema organizama

Pomoću sterilnog štapića aplikatora ili sterilne petlje za inokulaciju, prenesite dovoljno morfološki sličnih kolonija sa 18–24-satne primarne ploče za izolaciju (krvni, čokoladni, GV ili Tajer-Martinov agar) u HNID bujon za inokulum koji je uporediv sa Mekfarlandovim standardom zamućenosti barijum sulfata 3. U slučaju vrste *Neisseria*, poželjna je upotreba Mekfarlandovog standarda zamućenosti barijum sulfata 4. Pre inokulacije panela, izmešajte bujon za inokulum u vrtložnoj mešalici. Za inokulaciju HNID panela ne koristite manje od Mekfarlandovog standarda zamućenosti barijum sulfata 3.

3. Inokulacija

Prenesite 50 µl (0,05 ml) bujona za inokulum u svaki označeni bunarčić HNID panela. Treba koristiti pipetor od 50 µl sa sterilnim nastavkom. Nakon svake inokulacije panela, MicroScan preporučuje subkultivaciju 1 kapi viška bujona za inokulum na medijum radi provere čistoće.

NAPOMENA: za upotrebu sa autoSCAN-4 i WalkAway sistemima, neophodno je rehidrirati i bunarčić za LOC.

4. Biochemical Oil Overlays

Koristeći kapalicu, prekrijte bunarčić sa URE-om sa 2–3 kapi mineralnog ulja. Medije u bunarčiću treba potpuno prekriti, ali bunarčić ne treba prepuniti.

NAPOMENA: WalkAway SI instrumenti (i WalkAway instrumenti nadograđeni automatskom funkcijom prekrivanja uljem) automatski dodaju ulje u bunarčić sa URE-om.

5. Inkubacija

Inkubirajte inokulisane panele 4 sata na 35–37°C u ne-CO₂ inkubatoru. Složite panele u grupe od 4 do 5 sa poklopcem posude postavljenim preko vrha panela radi sprečavanja isparavanja.

6. Vizuelno čitanje panela ili čitanje panela na instrumentu touchSCAN

A. Nakon 4 sata inkubacije na temperaturi od 35 do 37°C, prvo treba pročitati testove koji ne zahtevaju dodavanje reagenasa (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA i BL).

B. Dodajte reagense na sledeći način:

a. PRO, NGL, ZAR

Dodajte 1 kap reagensa za peptidazu u bunarčiće sa peptidazama PRO, NGL i ZAR. Sačekajte 3–5 minuta da se reakcija s bojom razvije.

b. NO₃, NO₂

Dodajte 1 kap 0,8% sulfinske kiseline i 1 kap 0,5% N, N-dimetil-α-naftilamina u bunarčiće sa NO₃ i NO₂. Sačekajte 3–5 minuta da se reakcija s bojom razvije.

c. IND

Dodajte 1–2 kapi HNID reagensa za indol u bunarčić sa IND-om. Boja će se odmah razviti.

C. Tumačite reakcije u skladu sa Biohemijskim dijagramom za tumačenje i pribeležite rezultate na priloženom radnom listu ili unesite pozitivne reakcije preko touchSCAN čitača.

Tabala 1, Supstrati

Supstrati	Skr.	Supstrati	Skr.
Indoksil fosfat	IDX	Urea	URE
Nitrat	NO ₃	Ornitiin	ORN

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Supstrati	Skr.	Supstrati	Skr.
Nitrit	NO ₂	Indol	IND
Glukoza	GLU	L-prolil-β-naftilamid	PRO
Saharoza	SUC	N-γ-L-glutamil-β-naftilamid	NGL
Maltoza	MAL	N-α-benzoil-DL-Arginin-β-naftilamid	ZAR
Fruktoza	FRU	p-nitrofenil-α-D-glukozid	AGL
Laktoza	LAC	Skrob	STA
o-nitrofenil-β-D-galaktozid	GAL	β-laktamaza (penicilin)	BL

7. Očitavanja panela na autoSCAN-4 sistemu

- Nakon 4 sata inkubacije na temperaturi od 35 do 37°C, pre dodavanja reagenasa prekrijte GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA i BL mineralnim uljem.
- Dodajte reagense na sledeći način:
 - PRO, NGL, ZAR
Dodajte 1 kap reagensa za peptidazu u bunarčiće sa peptidazama PRO, NGL i ZAR. Sačekajte 3–5 minuta da se reakcija s bojom razvije.
 - NO₃, NO₂
Dodajte 1 kap 0,8% sulfinske kiseline i 1 kap 0,5% N, N-dimetil-α-naftilamina u bunarčiće sa NO₃ i NO₂. Sačekajte 3–5 minuta da se reakcija s bojom razvije.
 - IND
Dodajte 1–2 kapi HNID reagensa za indol u bunarčić sa IND-om. Boja će se odmah razviti.
- Nakon razvijanja svake reakcije u predviđenom vremenskom intervalu, umetnite panel u autoSCAN-4 instrument radi očitavanja.

8. Očitavanje panela na WalkAway sistemu

- Nakon 4 sata inkubacije, prvo se čitaju testovi koji ne zahtevaju dodavanje reagenasa (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA i BL).
- WalkAway sistem zatim dodaje odgovarajuće reagense u bunarčiće sa sledećim supstancama: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ i IND. Ove reakcije se zatim tumače.

NAPOMENA: WalkAway sistem očitava bunarčiće kod kojih nije potrebna prvobitna upotreba reagenasa za sprečavanje izmenjenih rezultata zbog para reagenasa koje mogu biti zarobljene ispod poklopca posude. Zbog toga se biohemikalije ne mogu verifikovati ručno.

REZULTATI

Tabela 2

Biohemijski dijagram za tumačenje			
Komora	Pozitivno	Negativno	Napomene
IDX	Plav do sivi talog	Bistra	
NO ₃	Ružičasta, crvena do cijan	Bistra do žuta	Rezultati se beleže nakon 3–5 minuta.
NO ₂	Bistra do žuta	Ružičasta, crvena do cijan	Rezultati se beleže nakon 3–5 minuta.
GLU SUC LAC	Narandžasta do žuta	Crvena do crvena / narandžasta	Svaku crvenu boju treba pribeležiti kao negativan rezultat.
FRU	Žuta do žuta/narandžasta	Crvena do narandžasta	Svaku žutu boju treba pribeležiti kao pozitivan rezultat.
MAL	Žuta	Crvena do žuta/narandžasta	
GAL	Žuta	Bistra	Bledo žuta boja je pozitivan rezultat. Upotrebite bunarčić sa IND-om pre dodavanja reagensa kao negativne kontrole.
URE	Crvena do cijan	Žuta do svetlo ružičasta	
ORN	Zelena do plava	Žuta do žuta/zelena	Svaku žutu boju treba pribeležiti kao negativan rezultat.
IND	Crveni prsten	Žuta	Svaku crvenu boju treba pribeležiti kao pozitivan rezultat.
PRO NGL ZAR	Crvena do cijan	Žuta do narandžasta	Rezultate treba pribeležiti u roku od 3 do 5 minuta. Na slabu reakciju na ZAR ukazuje mutan izgled.

Biohemijski dijagram za tumačenje

Komora	Pozitivno	Negativno	Napomene
AGL	Žuta	Bistra	Svaku žutu boju treba pribeležiti kao pozitivan rezultat. Upotrebite bunarčić sa IND-om pre dodavanja reagensa kao negativne kontrole.
STA BL	Žuta do žuta/narandžasta	Crvena do narandžasta	Svaku žutu boju treba uzeti u obzir kao pozitivan rezultat.
LOC	Samo za usklađivanje panela autoSCAN-4 i WalkAway sistema		

Reakcije

Indoksil fosfataza (IDX) - Alkalna fosfataza razdvaja indoksil fosfat na slobodni indoksil koji se kombinuje sa molekulskim kiseonikom radi formiranja nerastvorljivog plavog jedinjenja.

Nitrat (NO₃) - Sposobnost organizma da redukuje nitrat na nitrit detektuje se dodavanjem sulfinske kiseline i N, N-dimetil- α -naftilamina koji proizvode crvenu boju u prisustvu nitrita.

Nitrit (NO₂) - Sposobnost organizma da redukuje nitrite na slobodni azot gas detektuje se dodavanjem sulfinske kiseline i N, N-dimetil- α -naftilamina. U prisustvu nitrita, razvija se crvena boja koja predstavlja negativan test. Ako ne dođe do razvijanja boje, nitrit je smanjen i test je pozitivan test.

Upotreba ugljenih hidrata (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) - Upotreba specifičnih ugljenih hidrata dovodi do formiranja kiseline sa naknadnim padom pH vrednosti na koji ukazuje indikator fenol crvene boje.

β -galaktozidaza (GAL) - β -galaktozidaza hidrolizuje o-nitrofenil- β -D-galaktopiranozid koji oslobađa o-nitrofenol žute boje.

α -glukozidaza (AGL) - α -glukozidaza hidrolizuje p-nitrofenil- α -D-glukozid koji oslobađa p-nitrofenol žute boje.

Urea (URE) - Enzim ureaza razdvaja ureu koja formira amonijak sa rezultujućim povećanjem pH vrednosti koje se detektuje indikatorom fenol crvene boje.

Ornitin (ORN) - Dekarboksilacija ornitina dovodi do alkalizacije medija koji se detektuje pH indikatorom bromtimol plavom bojom.

Indol (IND) - Metabolizam triptofana za rezultat daje formiranje indola koji se detektuje dodavanjem HNID reagensa za indol. Ako je indol prisutan, formira se crveni prsten.

Peptidaze (PRO, NGL, ZAR) - Sposobnost organizma da proizvede specifični enzim peptidaze određuje se razdvajanjem odgovarajuće amino kiseline od njene veze sa β -naftilamidom. Slobodan β -naftilamid se zatim detektuje kompleksiranjem sa p-dimetilaminocinamaldehydom pri čemu se stvara crvena do cijan boja.

β -Lactamase (BL) - Pencilin G se razlaže β -laktamazom na penicilo kiselinu. Promena pH vrednosti detektuje se indikatorom fenol crvenom bojom.

Identifikacija organizma

Dokument „MicroScan HNID Biotype Codebook“ (MicroScan HNID šifarnik biotipova) se koristi za identifikaciju nepoznatih test organizama. Ovaj šifarnik je generisan iz MicroScan baze podataka koja sadrži informacije prikupljene iz testova na HNID panelu.

Dokument „Biotype Codebook“ (Šifarnik biotipova) sadrži računarsku analizu 17 testova za identifikaciju nepoznatih organizama. Ovi testovi su prevedeni u 6-cifreni „broj biotipa“, za koji šifarnik navodi identifikaciju organizma i njegovu relativnu verovatnoću. U dokumentu „HNID Biotype Codebook“ (HNID šifarnik biotipova) potražite proceduru za generisanje broja biotipa. Kada je samo jedan organizam naveden za broj biotipa, relativna verovatnoća iznosi 99,9%. Ako je za određeni broj biotipa moguće identifikovati više od jedne vrste, sve verovatnoće se štampaju redosledom najveće verovatnoće do kumulativne ukupne verovatnoće od 99,9%.

Ako se pojavi broj biotipa koji nije u Šifarniku, predložimo ponavljanje testa iz sveže kulture. Ako ponovnim testiranjem postignete iste rezultate, pogledajte opciju „Biotype Lookup Service“ (Usluga pretrage biotipa) na veb-lokaciji kompanije Beckman Coulter ili se obratite lokalnom distributeru.

OGRANIČENJA POSTUPKA

1. Ukoliko se za određeni broj biotipa navede više od jedne identifikacije vrste, za ispravnu identifikaciju mogu biti potrebni dodatni testovi. Treba obaviti i testiranje za druge kriterijume, kao što su C i V faktori i aerotolerancija.
2. Samo vrsta *Haemophilus*, vrsta *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* i *Gardnerella vaginalis* mogu biti testirane - ne koristite ovaj proizvod za druge kokobacilarne organizme.
3. Tumačenje rezultata testa treba da obavlja obučeno kliničko osoblje koje treba da koristi procenu, znanje i dodatna potvrdna testiranja kada je to potrebno, pre prihvatanja identifikacije organizma. Pogledajte fusnote navedene u dokumentu „HNID Biotype Codebook“ (HNID šifarnik biotipova) ili dokumentu „Microbiology Information Manual“ (Priručnik sa mikrobiološkim informacijama).
4. Brojeve biotipa ne treba koristiti za fenotipsku identifikaciju sojeva izolovanih iz različitih uzoraka istog pacijenta.
5. CLSI smernice M7-A7, Vol. 26, br. 2, preporučuju test sa β -laktamazom na bazi nitrocefina za testiranje *Branhamella catarrhalis*.¹⁷

- Grupe biotipova za vrstu *Haemophilus* nisu u korelaciji sa serotipovima, tj., *Haemophilus influenzae* II nije definitivno grupa B. Neophodna je serotipizacija.
- Neki sojevi *N. meningitidis* povremeno ne proizvode kiselinu iz maltoze. Ovi sojevi mogu da pruže netačnu identifikaciju *N. gonorrhoeae* ako je NGL takođe negativan. Pogledajte fusnote navedene u dokumentu „HNID Biotype Codebook“ (HNID šifarnik biotipova) ili dokumentu „Microbiologics Information Manual“ (Priručnik sa mikrobiološkim informacijama).
- Izolati *H. haemolyticus* koji su rasli na agaru čokolade mogu biti pogrešno identifikovani kao *H. influenzae*. Hemoliza na agaru konjske krvi može da se koristi za razlikovanje *H. haemolyticus* od *H. influenzae*.

OČEKIVANE VREDNOSTI

Na dijagramu HNID procentualno pozitivnih reakcija potražite očekivane rezultate za svaki test i svaku vrstu. (Pogledajte tabelu 3.)

Tabela 3 Dijagram verovatnoće HNID procentualno pozitivne reakcije ¹																		
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA	
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>H. aphrophilus</i> /paraphrophilus	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1	
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1	
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
Vrsta <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1	
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99	

1. Vrednosti za tumačenje pozitivnih reakcija prikazane u ovoj tabeli nisu stvarni procenti već prezentacije zasnovane na objavljenim podacima i rezultatima MicroScan sistema.

2. *Haemophilus influenzae* VI-1 je Biotip Oberhofer klasifikacije biotipova. *Haemophilus influenzae* VI-2 je Biotip VI Kilian klasifikacije biotipova.¹⁸

Očekivane reakcije su izražene pomoću devet vrednosti:					
Vrednost	Značenje	Vrednost	Značenje	Vrednost	Značenje
1	Poz. reakcija je veoma retka	25	Većina reakcija je negativno	90	Neg. reakcija je neuobičajena
5	Poz. reakcija je retka	50	Poz. ili neg. reakcija	95	Neg. reakcija je retka
10	Poz. reakcija je neuobičajena	75	Većina reakcija je pozitivna	99	Neg. reakcija je veoma retka

KONTROLA KVALITETA

Čistoću kulture treba proveriti subkultivacijom iz suspenzije inokuluma na odgovarajuće agar medijume. Rezultati testa nisu važeći ako se detektuje mešana kultura. Prihvatljivost medija za identifikaciju može se proveriti testiranjem sa sledećim sojevima: (tabela 4.)

Tabela 4

Dijagram za kontrolu kvaliteta

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Pozitivan rezultat može da se dobije sa *Neisseria mucosa* ATCC 49233.

2. Pozitivan rezultat može da se dobije sa *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.

3. Pozitivan rezultat može da se dobije sa *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

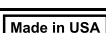
IZJAVA O GARANCIJI

Sistem je obuhvaćen i podleže odredbama garancije sadržanim u ugovornom sporazumu za sistem ili njegove reagense. Kupac je odgovoran za rutinske postupke preventivnog održavanja. Popravke koje su posledica nepoštovanja ovih procedura održavanja u naznačenim vremenskim intervalima vrše se po odluci kompanije Beckman Coulter, a o trošku kupca.

Ključ za simbole

Ključ za simbole			
Simbol	Naziv simbola	Opis standarda	Standard
	Ne upotrebljavati ponovo	Označava medicinsko sredstvo koje je namenjeno za jednokratnu upotrebu ili za upotrebu na jednom pacijentu tokom jedne procedure.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Upotrebiti do	Označava datum nakon kojeg medicinsko sredstvo ne treba koristiti.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Kôd serije	Označava šifru serije proizvođača, tako da se mogu identifikovati serija ili lot.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Kataloški broj	Označava kataloški broj proizvođača tako da se medicinsko sredstvo može identifikovati.	ISO 15223-1, clause 5.1.6 (ISO 15223-1, klauzula 5.1.6)
	Proizvođač	Označava proizvođača medicinskog sredstva, kao što je definisano u EU Direktivama 90/385/EEC, 93/42/EEC i 98/79/EC.	ISO 15223-1, clause 5.1.1 (ISO 15223-1, klauzula 5.1.1)
	Datum proizvodnje	Označava datum kada je medicinsko sredstvo proizvedeno.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici	Označava ovlašćenog zastupnika u Evropskoj zajednici.	ISO 15223-1, clause 5.1.2 (ISO 15223-1, klauzula 5.1.2)
	Sadržaj dovoljan za <n> testova	Označava ukupan broj IVD testova koji se mogu obaviti pomoću IVD. (Tipično se nalazi na kompletima reagenasa).	ISO 15223-1; 5.5.5

Ključ za simbole

Simbol	Naziv simbola	Opis standarda	Standard
	<i>In Vitro</i> dijagnostičko medicinsko sredstvo	Označava medicinski uređaj koji je namenjen za korišćenje kao <i>in vitro</i> dijagnostičko medicinsko sredstvo.	ISO 15223-1, clause 5.5.1 (ISO 15223-1, klauzula 5.5.1)
	Ograničenje temperature	Označava ograničenja temperature kojima se medicinsko sredstvo može bezbedno izložiti.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Pogledati Uputstvo za upotrebu	Označava potrebu da korisnik pogleda uputstvo za upotrebu.	ISO 15223-1; 5.4.3
	CE oznaka	Evropska regulatorna oznaka usklađenosti	Nije primenljivo
	Sadržaj	Nije primenljivo	Nije primenljivo
	Sadržaj (pakovanje)	Antimikrobno sredstvo (skraćenica)	Nije primenljivo
	Sadržaj (pakovanje)	Supstrat za identifikaciju (skraćenica)	Nije primenljivo
	Bezbednosni list	Označava bezbednosni list.	Nije primenljivo
	Proizvedeno u SAD	Nije primenljivo	Nije primenljivo
	Samo za izvoz	Nije primenljivo	Nije primenljivo
	Zapremina rekonstitucije	Nije primenljivo	Nije primenljivo
	Lomljivo, rukujte pažljivo	Označava medicinsko sredstvo koje se može slomiti ili oštetiti ako se sa njim ne rukuje pažljivo.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Ova strana gore	Označava ispravan uspravan položaj	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Medicinska sredstva – Simboli koji se koriste za obeležavanje medicinskih sredstava, obeležavanje pakovanja i informacije koje treba da se dostave. Deo 1: Opšti zahtevi).			

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu su žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

MicroScan

HNID Procedural Manual (Manual de procedimentos do HNID)

REF B1012-10B

USO PREVISTO

O sistema HNID foi desenvolvido para a identificação e a detecção rápidas da produção de β -lactamase nas espécies *Neisseria*, espécies *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* e *Gardnerella vaginalis*. A biotipagem de *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus parainfluenzae* também pode ser realizada.

SUMÁRIO E PRINCÍPIO

Para a identificação de cocos e bacilos Gram-negativos fastidiosos, são usados testes cromogênicos e convencionais modificados.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Uma suspensão 3 McFarland do organismo a ser testado é feita em um caldo de inóculo especial. O painel HNID é reidratado e inoculado a partir do caldo e é incubado por 4 horas. Após a incubação, as mudanças no pH e a utilização de determinados substratos ou outras reações bioquímicas são interpretadas para identificação. Um método acidométrico rápido é utilizado para a detecção da enzima β -lactamase.^{13,14,15}

AVISOS E PRECAUÇÕES

Os painéis e reagentes HNID destinam-se apenas para uso em diagnóstico *in vitro*. Não permita que o reagente peptidase ou o reagente de indol HNID entrem em contato com os olhos, a pele ou as roupas. Observe as técnicas assépticas e as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos em todo o procedimento, com especial atenção ao fato de que os painéis inoculados contêm organismos potencialmente patogênicos.

ARMAZENAMENTO

Armazene a 2–8°C. Após a reidratação com o caldo de inóculo HNID, descarte o painel se algum substrato parecer ter uma reação positiva. Consulte a Tabela de interpretação bioquímica quanto às reações de coloração positiva.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em techdocs.beckmancoulter.com

COLETA DE ESPÉCIME E PREPARAÇÃO

Os espécimes devem ser coletados e colocados em meio de isolamento primário de acordo com os procedimentos laboratoriais descritos no *Manual of Clinical Microbiology* (Manual de microbiologia clínica).¹⁶

MATERIAIS FORNECIDOS

Painel HNID (B1012-10B)

Manual de procedimentos

HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID)

Planilha de dados

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Caldo de inóculo HNID (B1015-16)

Reagente peptidase (B1012-30B)

Bandeja de proteção (B1010-56B)

Óleo mineral, 60 mL (B1010-40)

Óleo mineral, 250 mL (B1010-40A) — SOMENTE para uso com instrumentos WalkAway SI (e instrumentos WalkAway aprimorados com o recurso de sobreposição automática de óleo)

N,N-Dimetil-alfa-naftilamina 0,5% (B1010-45A)

Reagente de indol HNID (B1015-15)

Ácido sulfanílico a 0,8% (B1010-44A)

Pipetador de 50 μ L com pontas estéreis

Aplicadores em madeira estéreis ou alça de inoculação estéril

Padrão de turbidez do sulfato de bário 3 McFarland

Padrão de turbidez do sulfato de bário 4 McFarland

Misturador vórtex

35–37°C em incubador sem CO₂

Organismos de controle de qualidade:

C29877–AB

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCEDIMENTO

1. Preparação de painel

Retire o painel da refrigeração e retire-o *imediatamente* da embalagem de alumínio. **Os painéis não deverão ser usados se não houver dessecante, se o dessecante estiver rompido ou se a integridade da embalagem estiver comprometida (sem vedação, furada ou rasgada).** Espere até que o painel e o caldo de inóculo HNID atinjam a temperatura ambiente antes do uso. Os painéis podem ser empilhados com uma bandeja de proteção limpa na parte superior.

2. Preparação do organismo

Usando um aplicador estéril ou uma alça de inoculação estéril, transfira colônias morfológicamente similares em quantidade suficiente a partir de uma placa de isolamento primário de 18–24 horas (ágar sangue, chocolate, GV ou Thayer Martin) para o caldo de inóculo HNID comparável a um padrão de turbidez de sulfato de bário 3 McFarland. Para espécies *Neisseria*, é desejável um padrão de turbidez de sulfato de bário 4 McFarland. Agite em vórtex o caldo de inóculo antes de inocular o painel. Não use nada inferior a um padrão de turbidez de sulfato de bário 3 McFarland para inocular os painéis HNID.

3. Inoculação

Transfira 50 µL (0,05 mL) de caldo inóculo para cada poço rotulado do painel HNID. Deve-se utilizar um pipetador de 50 µL com ponta estéril. Após cada inoculação do painel, o MicroScan recomenda a subcultura de 1 gota do excesso do caldo de inóculo em um meio adequado, para verificação de pureza.

NOTA: para uso com os Sistemas autoSCAN-4 e WalkAway, o poço LOC também deve ser reidratado.

4. Sobreposições de óleo bioquímico

Usando um frasco conta-gotas, sobreponha 2–3 gotas de óleo mineral no poço URE. O meio contido no poço deve ser completamente coberto, mas o poço não deve ser excessivamente enchido.

NOTA: os instrumentos WalkAway SI (e os instrumentos WalkAway aprimorados com o recurso de sobreposição automática de óleo) adicionam óleo automaticamente ao poço URE.

5. Incubação

Incube o painel inoculado por 4 horas a 35–37°C em uma incubadora sem CO₂. Empilhe os painéis em grupos de 4 a 5 com uma bandeja de proteção sobre o painel superior para evitar a evaporação.

6. Leitura do painel visual ou touchSCAN

A. Após 4 horas de incubação a uma temperatura de 35–37°C, os testes que não exigem a adição de reagentes (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA e BL) devem ser lidos primeiro.

B. Adicione reagentes da seguinte maneira:

a. PRO, NGL, ZAR

Adicione 1 gota de reagente peptidase aos poços PRO, NGL e ZAR. Aguarde 3–5 minutos para que a reação de coloração se desenvolva.

b. NO₃, NO₂

Adicione 1 gota de ácido sulfanílico a 0,8% e 1 gota de N,N-dimetil-alfa-naftilamina a 0,5% aos poços NO₃ e NO₂. Aguarde 3–5 minutos para que a reação de coloração se desenvolva.

c. IND

Adicione 1–2 gotas de reagente de indol HNID ao poço IND. A coloração se desenvolverá imediatamente.

C. Interprete as reações de acordo com a Tabela de interpretação bioquímica e registre os resultados na planilha fornecida, ou insira as reações positivas por meio do leitor touchSCAN.

Tabela 1, Substratos

Substratos	Abr.	Substratos	Abr.
Fosfato de indoxil	IDX	Ureia	URE
Nitrato	NO ₃	Ornitina	ORN
Nitrito	NO ₂	Indol	IND
Glicose	GLU	L-Prolil-β-naftilamida	PRO
Sacarose	SUC	N-γ-L-Glutamil-β-naftilamida	NGL
Maltose	MAL	N-α-Benzoil-DL-Arginina-β-naftilamida	ZAR
Frutose	FRU	p-Nitrofenil-α-D-glicosídeo	AGL
Lactose	LAC	Amido	STA
o-Nitrofenil-β-D-galactosídeo	GAL	β-Lactamase (penicilina)	BL

7. Leitura de painel com autoSCAN-4

- A. Após 4 horas de incubação a uma temperatura de 35–37°C, sobreponha GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA e BL com óleo mineral antes de adicionar os reagentes.
- B. Adicione reagentes da seguinte maneira:
- PRO, NGL, ZAR
Adicione 1 gota de reagente peptidase aos poços PRO, NGL e ZAR. Aguarde 3–5 minutos para que a reação de coloração se desenvolva.
 - NO₃, NO₂
Adicione 1 gota de ácido sulfanílico a 0,8% e 1 gota de N,N-dimetil-alfa-naftilamina a 0,5% aos poços NO₃ e NO₂. Aguarde 3–5 minutos para que a reação de coloração se desenvolva.
 - IND
Adicione 1–2 gotas de reagente de indol HNID ao poço IND. A coloração se desenvolverá imediatamente.
- C. Após cada reação ter se desenvolvido pela quantidade certa de tempo, insira o painel no autoSCAN-4 para leitura.

8. Leitura de painel com Sistemas WalkAway

- A. Após 4 horas de incubação, os testes que não exigem a adição de reagentes (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA e BL) são lidos primeiro.
- B. O WalkAway adiciona então os reagentes adequados aos seguintes poços: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ e IND. Essas reações são então interpretadas.

NOTA: o WalkAway lê primeiro os poços que não exigem reagentes para evitar alteração nos resultados devido a vapores de reagentes que podem ficar presos sob a tampa da bandeja. Assim, os compostos bioquímicos não podem ser verificados manualmente.

RESULTADOS**Tabela 2**

Tabela de interpretação bioquímica			
Poço	Positivo	Negativo	Notas
IDX	Precipitado azul a cinza	Transparente	
NO ₃	Rosa, vermelho a magenta	Incolor a amarelo	Resultados registrados após 3–5 minutos.
NO ₂	Incolor a amarelo	Rosa, vermelho a magenta	Resultados registrados após 3–5 minutos.
GLU SUC LAC	Laranja a amarelo	Vermelho a vermelho/laranja	Qualquer coloração vermelha deve ser registrada como negativa.
FRU	Amarelo para amarelo/laranja	Vermelho a laranja	Qualquer coloração amarela deve ser registrada como positiva.
MAL	Amarelo	Vermelho a amarelo/laranja	
GAL	Amarelo	Transparente	Um amarelo-claro é positivo. Use o poço IND antes da adição de reagente como controle negativo.
URE	Vermelho a magenta	Amarelo a rosa-claro	
ORN	Verde para azul	Amarelo a amarelo/verde	Qualquer coloração amarela deve ser registrada como negativa.
IND	Anel vermelho	Amarelo	Qualquer coloração vermelha deve ser registrada como positiva.

Tabela de interpretação bioquímica

Poço	Positivo	Negativo	Notas
PRO NGL ZAR	Vermelho a magenta	Amarelo a laranja	Os resultados deverão ser registrados após 3–5 minutos. Uma reação ZAR fraca é indicada por uma aparência nebulosa.
AGL	Amarelo	Transparente	Qualquer coloração amarela deve ser registrada como positiva. Use o poço IND antes da adição de reagente como controle negativo.
STA BL	Amarelo para amarelo/laranja	Vermelho a laranja	Qualquer coloração amarela deve ser considerada positiva.
LOC	Para alinhamento de painéis dos sistemas autoSCAN-4 e WalkAway		

Reações

Indoxil fosfatase (IDX) — A fosfatase alcalina divide o indoxil fosfato para indoxil livre, que se combina com oxigênio molecular formando um composto azul insolúvel.

Nitrato (NO₃) — A capacidade de um organismo reduzir nitrato para nitrito é detectada pela adição de ácido sulfanílico e N,N-dimetil-alfa-naftilamina, que produzem uma cor vermelha na presença de nitrito.

Nitrito (NO₂) — A capacidade de um organismo reduzir o nitrito para nitrogênio gasoso livre é detectada pela adição de ácido sulfanílico e N,N-dimetil- α -naftilamina. Na presença de nitrito, se desenvolve uma coloração vermelha, representando um teste negativo. Caso nenhuma coloração se desenvolva, o nitrito foi reduzido e o teste é positivo.

Utilização de carboidrato (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) — A utilização de um carboidrato específico resulta na formação de ácido com a gota de pH consequente indicada por um indicador vermelho de fenol.

β -Galactosidase (GAL) — A β -galactosidase hidrolisa o o-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo, que libera o o-nitrofenol de coloração amarelada.

α -Glicosidase (AGL) — A α -glicosidase hidrolisa o p-nitrofenil- α -D-glicosídeo que libera o p-nitrofenol de coloração amarelada.

Ureia (URE) — A enzima urease divide a ureia formando amônia, com o aumento de pH resultante detectado por um indicador vermelho de fenol.

Ornitina (ORN) — A descarboxilação da ornitina resulta em uma alcalinização do meio, que é detectada pelo indicador de pH bromotimol azul.

Indol (IND) — O metabolismo do triptofano resulta na formação de indol, que é detectado pela adição do reagente de indol HNID. Se o indol estiver presente, ocorre formação de um anel vermelho.

Peptidases (PRO, NGL, ZAR) — A capacidade de um organismo produzir uma enzima peptidase específica é determinada pela divisão do aminoácido adequado, a partir de sua ligação com β -naftilamida. A β -naftilamida livre é então detectada por complexação com p-dimetilaminocinamaldeído, produzindo uma coloração vermelha a magenta.

β -Lactamase (BL) — A penicilina G é degradada por β -lactamase para ácido peniciloico. A mudança de pH é detectada por um indicador vermelho de fenol.

Identificação de organismos

O MicroScan HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID MicroScan) é usado para a identificação de organismos de teste desconhecidos. Esse Livro de códigos foi gerado a partir do banco de dados MicroScan de informações compiladas a partir de testes no painel HNID.

O Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos) fornece análise computacional de 17 testes para identificar organismos desconhecidos. Esses testes são traduzidos para um “número de biótipo” de 6 dígitos, para o qual o Livro de códigos lista a identificação do organismo e sua probabilidade relativa. Consulte no HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID) o procedimento para gerar um número de biótipo. Quando apenas um organismo é listado para um número de biótipo, a probabilidade relativa é de 99,9%. Se for possível a identificação de mais de uma espécie para um número de biótipo em particular, todas as possibilidades são impressas na ordem de maior probabilidade até uma probabilidade total cumulativa de 99,9%.

Caso ocorra um número de biótipo que não esteja no Livro de códigos, sugerimos repetir o teste com uma cultura fresca. Se o novo teste gerar os mesmos resultados, consulte o Biotype Lookup Service (Serviço de busca de biótipo) no site da Beckman Coulter ou consulte o seu revendedor local.

LIMITAÇÃO DO PROCEDIMENTO

1. No caso de identificação de mais de uma espécie listada para um número de biótipo em particular, poderão ser necessários testes suplementares para uma identificação correta. Também devem ser feitos testes para outros critérios, tais como os fatores X e V e a aerotolerância.
2. Somente espécies de *Haemophilus*, espécies *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* e *Gardnerella vaginalis* podem ser testadas — não use este produto para outros organismos cocobacilares.

3. A interpretação dos resultados dos testes exige pessoal clínico treinado, que devem fazer uso de discernimento, conhecimento e testes confirmatórios adicionais, sempre que necessário, antes de aceitar a identificação de um organismo. Consulte as notas de rodapé listadas no HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID) ou no Microbiology Information Manual (Manual de informações microbiológicas).
4. Os números de biótipos não devem ser usados para identificação do fenótipo de cepas isoladas de diversos espécimes do mesmo paciente.
5. As diretrizes do CLSI M7-A7, Vol. 26, Nº 2, recomendam o teste β -Lactamase baseado em nitrocefina para testar a *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
6. Os grupos de biótipos para *Haemophilus* sp. não correlacionam com sorotipos, ou seja, *Haemophilus influenzae* II definitivamente não pertence ao grupo B. É necessário realizar a sorotipagem.
7. Ocasionalmente, algumas cepas de *N. meningitidis* não produzem ácido a partir de maltose. Essas cepas podem dar uma identificação incorreta de *N. gonorrhoeae* se NGL também for negativo. Consulte as notas de rodapé listadas no HNID Biotype Codebook (Livro de códigos de biótipos HNID) ou no Microbiology Information Manual (Manual de informações microbiológicas).
8. Isolados de *H. haemolyticus* desenvolvidos em ágar chocolate podem ser incorretamente identificados como *H. influenzae*. A hemólise em ágar de sangue de cavalo também pode ser usada para distinguir a *H. haemolyticus* da *H. influenzae*.

VALORES ESPERADOS

Consulte na tabela de Reação positiva percentual HNID os resultados esperados de cada teste e de cada espécie. (Consulte a Tabela 3.)

Tabela 3 Tabela de probabilidade Reações positivas percentuais HNID¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
Espécie de <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

1. Os valores de interpretações de reações positivas mostrados nessa tabela não são porcentagens reais, mas sim uma representação baseada em dados publicados e nos resultados do MicroScan.
2. *Haemophilus influenzae* VI-1 é o biótipo da classificação de biótipos Oberhofer. *Haemophilus influenzae* VI-2 é o biótipo VI da classificação de biótipos Kilian.¹⁸

As reações esperadas são expressas por nove valores:					
Valor	Significado	Valor	Significado	Valor	Significado
1	Reação positiva muito rara	25	Maioria de reação negativa	90	Reação negativa incomum
5	Reação positiva rara	50	Reação positiva ou negativa	95	Reação negativa rara
10	Reação positiva incomum	75	Maioria de reação positiva	99	Reação negativa muito rara

CONTROLE DE QUALIDADE

A pureza da cultura deve ser verificada por meio de subcultura de suspensão de inóculo em um meio ágar adequado. Os resultados do teste são inválidos se é detectada uma cultura mista. A aceitabilidade do meio de identificação pode ser verificada testando-se com as seguintes cepas: (Tabela 4.)

Tabela 4

Tabela de controle de qualidade

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Um resultado positivo pode ser obtido com *Neisseria mucosa* ATCC 49233.

2. Um resultado positivo pode ser obtido com *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.

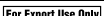
3. Um resultado positivo pode ser obtido com *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

DECLARAÇÃO DE GARANTIA

O sistema está coberto pelas e sujeito às disposições da garantia incluída no seu acordo contratual para o sistema ou seus reagentes. O cliente é responsável pelos procedimentos de manutenção preventiva de rotina. Os reparos resultantes da não execução desses procedimentos de manutenção nos intervalos de tempo indicados são efetuados a critério da Beckman Coulter e às custas do cliente.

Legenda dos símbolos

Legenda dos símbolos			
Símbolo	Título do símbolo	Descrição do padrão	Padrão
	Não reutilize	Indica um dispositivo médico de uso único ou destinado para uso em um único paciente durante um único procedimento.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Data de validade	Indica a data após a qual o dispositivo médico não deve ser usado.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Código de lote	Indica o código de lote do fabricante pelo qual o lote pode ser identificado.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Número do catálogo	Indica o número de catálogo do fabricante para que o dispositivo médico possa ser identificado.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.6
	Fabricante	Indica o fabricante do dispositivo médico, conforme definido nas Diretivas da UE 90/385/CEE, 93/42/CEE e 98/79/CE.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.1
	Data de fabricação	Indica a data em que o dispositivo médico foi fabricado.	ISO 15223-1; 5.3.1

Legenda dos símbolos			
Símbolo	Título do símbolo	Descrição do padrão	Padrão
	Representante autorizado na Comunidade Europeia	Indica o representante autorizado na Comunidade Europeia.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.2
	Contém o suficiente para <n> testes	Indica o número total de testes de IVD que podem ser realizados com o IVD. (Normalmente incluído nos kits de reagentes).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Indica um dispositivo médico destinado a ser usado como um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, cláusula 5.5.1
	Limitação de temperatura	Indica os limites de temperatura aos quais o dispositivo médico pode ser exposto com segurança.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Consulte as Instruções de uso	Indica a necessidade de o usuário consultar as instruções de uso.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Marca CE	Marca regulatória de conformidade europeia	n/a
	Conteúdo	n/a	n/a
	Conteúdo (embalagem)	Agente antimicrobiano (abreviação)	n/a
	Conteúdo (embalagem)	Substrato de identificação (abreviação)	n/a
	Folha de dados de segurança	Indica uma folha de dados de segurança.	n/a
	Fabricado nos EUA	n/a	n/a
	Apenas para exportação	n/a	n/a
	Volume de reconstituição	n/a	n/a
	Frágil, manuseie com cuidado	Indica um dispositivo médico que pode ser quebrado ou danificado se não for manuseado com cuidado.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Este lado para cima	Indica a posição vertical correta	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices — Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Dispositivos médicos — Símbolos para serem usados com etiquetas de dispositivos médicos, etiquetagem e informações a serem fornecidas. Parte 1: Requisitos gerais).			

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter contidos neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

MicroScan

HNID-procedurehandleiding

REF B1012-10B

BEOOGD GEBRUIK

Het HNID-systeem is ontworpen voor de snelle identificatie en detectie van β -lactamaseproductie in *Neisseria*-soorten, *Haemophilus*-soorten, *Branhamella catarrhalis* en *Gardnerella vaginalis*. Biotypering van *Haemophilus influenzae* en *Haemophilus parainfluenzae* is ook mogelijk.

OVERZICHT EN PRINCIPE

Gewijzigde conventionele en chromogene tests worden gebruikt voor de identificatie van moeilijk groeiende gramnegatieve kokken en bacillen.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Een 3 McFarland-suspensie van het te testen organisme wordt gemaakt in een speciale inoculumkweek. De HNID-panel wordt gerehydrateerd en vanuit de kweek geïnoculeerd en gedurende 4 uur geïncubeerd. Na incubatie worden veranderingen in pH en het gebruik van bepaalde substraten of andere biochemische reacties geïnterpreteerd voor identificatie. Een snelle acidometrische methode wordt gebruikt voor de detectie van het enzym β -lactamase.^{13,14,15}

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMATREGELEN

HNID-panels en reagentia dienen uitsluitend voor *in-vitro* diagnostisch gebruik. Laat peptidase- of HNID-indoolreagens niet in contact komen met de ogen, huid of kleding. Maak tijdens de procedure gebruik van aseptische technieken en houd u aan de voorzorgsmaatregelen met betrekking tot microbiologisch gevaar. Houd er rekening mee dat de geïnoculeerde panels mogelijk pathogene organismen bevatten.

OPSLAG

Bewaren bij 2-8 °C. Na rehydratatie met een HNID-inoculumkweek moet u de panel wegwerpen als een substraat positief lijkt te reageren. Zie de biochemische interpretatiekaart voor positieve kleurreacties.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op techdocs.beckmancoulter.com

VERZAMELEN EN PREPAREREN VAN SPECIMEN

Specimens worden afgenomen en geplaatst op primaire isolatiemedia volgens de laboratoriumprocedures die worden beschreven in de *Manual of Clinical Microbiology* (Handleiding klinische microbiologie).¹⁶

GELEVERDE MATERIALEN

HNID-panel (B1012-10B)

Procedurehandleiding

HNID-biotypencodeboek

Werkblad

BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

HNID-inoculumkweek (B1015-16)

Peptidasereagens (B1012-30B)

Afdektray (B1010-56B)

Minerale olie, 60 mL (B1010-40)

Minerale olie, 250 mL (B1010-40A) – ALLEEN voor gebruik met WalkAway SI-instrumenten (en WalkAway-instrumenten met een upgrade voor de automatische olieoverlayfunctie)

0,5% N,N-dimethylalfanaftylamine (B1010-45A)

HNID-indoolreagens (B1015-15)

0,8% sulfanilzuur (B1010-44A)

Pipet van 50 μ L met steriele punten

Steriele houten applicatorstokjes of een steriel entoog

Troebelheidsstandaard voor bariumsulfaat met een waarde van 3 McFarland

Troebelheidsstandaard voor bariumsulfaat met een waarde van 4 McFarland

Wervelmixer

35-37 °C niet-CO₂-incubator

Organismen voor kwaliteitscontrole:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

PROCEDURE

1. Panelvoorbereiding

Haal de panel uit de koeling en verwijder de folieverpakking *onmiddellijk*. **Panels mogen niet worden gebruikt wanneer het dehydratiemiddel afwezig of defect is of wanneer de verpakking beschadigd is (niet dicht, geperforeerd of gescheurd).** Laat de panel en de HNID-inoculumkweek vóór gebruik op kamertemperatuur komen. Panels mogen worden gestapeld als er een schone afdektray bovenop wordt gelegd.

2. Organismen prepareren

Breng met een steriel applicatorstokje of een steriel entoog voldoende morfologisch gelijkaardige kolonies van een 18-24-uurs primaire isolatieplaat (bloed-, chocolade-, GV- of Thayer Martin-agar) over naar de HNID-inoculumkweek, vergelijkbaar met een troebelheidsstandaard voor bariumsulfaat met een waarde van 3 McFarland. Voor *Neisseria*-soorten is een troebelheidsstandaard voor bariumsulfaat met een waarde van 4 McFarland wenselijk. Meng de inoculumkweek in een vortexmixer voordat u de panel inoculeert. Gebruik niet minder dan een troebelheidsstandaard voor bariumsulfaat met een waarde van 3 McFarland om HNID-panels te inoculeren.

3. Inoculatie

Breng 50 µL (0,05 mL) inoculumkweek over naar elke gelabelde well van de HNID-panel. Gebruik een pipet van 50 µL met steriele punt. MicroScan raadt aan om bij wijze van zuiverheidscontrole na elke panelinoculatie een subcultuur van 1 druppel overtollige inoculatiekweek te maken op een geschikt medium.

OPMERKING: Voor gebruik met autoSCAN-4- en WalkAway-systemen moet de LOC-well ook worden gerehydrateerd.

4. Biochemische olieoverlays

Gebruik een druppelflesje om de URE-well te bedekken met 2-3 druppels minerale olie. De media in de well moeten volledig bedekt zijn, maar de well mag niet overvol zijn.

OPMERKING: WalkAway *SI*-instrumenten (en WalkAway-instrumenten met een upgrade voor de automatische olieoverlayfunctie) voegen automatisch olie toe aan de URE-well.

5. Incubatie

Incubeer de geïnoculeerde panel gedurende 4 uur bij 35-37 °C in een niet-CO₂-incubator. Stapel panels in groepen van 4 tot 5 exemplaren met een afdektray op het bovenste panel om verdamping te voorkomen.

6. Visuele of touchSCAN-panelaflezing

A. Na 4 uur incubatie bij 35-37 °C moeten de tests waarvoor geen reagentia hoeven te worden toegevoegd (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA en BL) eerst worden afgelezen.

B. Voeg reagentia als volgt toe:

a. PRO, NGL, ZAR

Voeg 1 druppel van het peptidasereagens toe aan de PRO-, NGL- en ZAR-wells. Wacht 3-5 minuten zodat er zich kleuren kunnen vormen.

b. NO₃, NO₂

Voeg eerst 1 druppel 0,8% sulfanilzuur en vervolgens 1 druppel 0,5% N,N-dimethylalfanafhylamine toe aan de NO₃- en NO₂-wells. Wacht 3-5 minuten zodat er zich kleuren kunnen vormen.

c. IND

Voeg 1-2 druppels HNID-indoolreagens toe aan de IND-well. De kleur verandert meteen.

C. Interpreteer de reacties aan de hand van de biochemische interpretatiekaart en registreer de resultaten op het bijgeleverde werkblad of voer de positieve reacties in via de touchSCAN-lezer.

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Tabel 1, substraten

Substraten	Afk.	Substraten	Afk.
Indoxylfosfaat	IDX	Ureum	URE
Nitraat	NO ₃	Ornithine	ORN
Nitriet	NO ₂	Indool	IND
Glucose	GLU	L-prolyl-β-naftylamide	PRO
Sucrose	SUC	N-γ-L-glutamyl-β-naftylamide	NGL
Maltose	MAL	N-α-benzoyl-DL-Arginine-β-naftylamide	ZAR
Fructose	FRU	p-Nitrofenyl-α-D-glucoside	AGL
Lactose	LAC	Stijfsel	STA
o-nitrofenyl-β-D-galactoside	GAL	β-Lactamase (penicilline)	BL

7. autoSCAN-4-panelaflezing

- A. Na 4 uur incubatie bij 35-37 °C bedekt u de GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA en BL met minerale olie voordat u reagentia toevoegt.
- B. Voeg reagentia als volgt toe:
- PRO, NGL, ZAR
Voeg 1 druppel van het peptidasereagens toe aan de PRO-, NGL- en ZAR-wells. Wacht 3-5 minuten zodat er zich kleuren kunnen vormen.
 - NO₃, NO₂
Voeg eerst 1 druppel 0,8% sulfanilzuur en vervolgens 1 druppel 0,5% N,N-dimethylalfanafhylamine toe aan de NO₃- en NO₂-wells. Wacht 3-5 minuten zodat er zich kleuren kunnen vormen.
 - IND
Voeg 1-2 druppels HNID-indoolreagens toe aan de IND-well. De kleur verandert meteen.
- C. Nadat elke reactie voldoende tijd heeft gehad, plaatst u de panel in de autoSCAN-4 om deze af te lezen.

8. Panelaflezing WalkAway-systemen

- A. Na 4 uur incubatie moeten de tests waarvoor geen reagentia hoeven te worden toegevoegd (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA en BL), eerst worden afgelezen.
- B. De WalkAway voegt vervolgens de juiste reagentia toe aan de volgende wells: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ en IND. Deze reacties worden vervolgens geïnterpreteerd.

OPMERKING: de WalkAway leest wells die vooraf geen reagentia vereisen (ter voorkoming van gewijzigde resultaten die optreden doordat reagensdampen opgesloten raken onder het deksel van de tray). Daardoor kunnen biochemische reacties niet handmatig worden geverifieerd.

RESULTATEN**Tabel 2**

Biochemische interpretatiekaart			
Bron	Positief	Negatief	Opmerkingen
IDX	Blauw tot grijs precipitaat	Helder	
NO ₃	Roze, rood tot magenta	Transparant tot geel	Resultaten geregistreerd na 3-5 minuten.
NO ₂	Transparant tot geel	Roze, rood tot magenta	Resultaten geregistreerd na 3-5 minuten.
GLU SUC LAC	Oranje tot geel	Rood tot rood/oranje	Een rode kleur moet altijd als negatief worden geregistreerd.
FRU	Geel tot geel/oranje	Rood tot oranje	Een gele kleur moet altijd als positief worden geregistreerd.
MAL	Geel	Rood tot geel/oranje	
GAL	Geel	Helder	Lichtgeel is positief. Gebruik de IND-well voordat u een reagens toevoegt als negatieve controle.
URE	Rood tot magenta	Geel tot lichtroze	
ORN	Groen tot blauw	Geel tot geel/groen	Een gele kleur moet altijd als negatief worden geregistreerd.
IND	Rode ring	Geel	Een rode kleur moet altijd als positief worden geregistreerd.
PRO NGL ZAR	Rood tot magenta	Geel tot oranje	Resultaten moeten binnen 3-5 minuten worden geregistreerd. Een zwakke ZAR-reactie blijkt uit een troebel uiterlijk.

Biochemische interpretatiekaart			
Bron	Positief	Negatief	Opmerkingen
AGL	Geel	Helder	Een gele kleur moet altijd als positief worden geregistreerd. Gebruik de IND-well voordat u een reagens toevoegt als negatieve controle.
STA BL	Geel tot geel/oranje	Rood tot oranje	Een gele kleur moet altijd als positief worden beschouwd.
LOC	Voor paneluitlijning door autoSCAN-4 en WalkAway-systemen		

Reacties

Indoxylfosfatase (IDX) – Alkalische fosfatase splitst indoxylfosfaat in vrij indoxyl, dat zich bindt aan moleculaire zuurstof en daarmee een onoplosbare, blauwe verbinding vormt.

Nitraat (NO₃) – Het vermogen van een organisme om nitraat af te breken tot nitriet wordt gedetecteerd door sulfanilzuur en N,N-dimethylalfanaftylamine toe te voegen, wat in aanwezigheid van nitriet leidt tot een rode kleur.

Nitriet (NO₂) – Het vermogen van een organisme om nitriet af te breken tot vrij stikstofgas wordt gedetecteerd door sulfanilzuur en N,N-dimethylalfanaftylamine toe te voegen. Als er nitriet aanwezig is, vormt zich een rode kleur die duidt op een negatieve test. Als er geen kleur ontstaat, is het nitriet afgebroken en is de test positief.

Gebruik van koolhydraten (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) – Het gebruik van een specifiek koolhydraat leidt tot zuurvorming, met als gevolg een daling van de pH die wordt gedetecteerd door een fenolrode indicator.

β-galactosidase (GAL) – β-galactosidase hydroliseert o-nitrofenyl-β-D-galactopyranoside, waardoor het geelkleurige o-nitrofenol vrijkomt.

α-glucosidase (AGL) – α-glucosidase hydroliseert p-nitrofenyl-α-D-glucoside, waardoor geelkleurig p-nitrofenol vrijkomt.

Ureum (URE) – Het enzym urease laat ureum splijten, waardoor ammoniak ontstaat. De resulterende pH-toename wordt gedetecteerd door een fenolrode indicator.

Ornithine (ORN) – Decarboxylering van ornithine resulteert in een alkalisering van de media, wat wordt gedetecteerd doordat de pH-indicator broomthymolblauw wordt.

Indool (IND) – Het metabolisme van tryptofaan resulteert in de vorming van indool, dat wordt gedetecteerd door HNID-indoolreagens toe te voegen. Als indool aanwezig is, vormt zich een rode ring.

Peptidasen (PRO, NGL, ZAR) – Of een mechanisme een specifiek peptidase-enzym kan produceren, wordt bepaald door het juiste aminozuur af te splitsen van zijn binding aan β-naftylamide. Het vrije β-naftylamide wordt vervolgens gedetecteerd door het te complexeren met p-dimethylaminocinnamaldehyde, wat een rode tot magenta kleur produceert.

β-Lactamase (BL) – Pencilline G wordt door β-lactamase afgebroken tot penicilloïnezuur. De pH-verschuiving wordt gedetecteerd door een fenolrode indicator.

Identificatie van organismen

Het MicroScan HNID-biotypencodeboek wordt gebruikt voor het identificeren van onbekende testorganismen. Dit codeboek is ontleend aan de database van MicroScan op grond van tests afkomstig uit de HNID-panel.

Het biotypencodeboek biedt een computeranalyse van 17 tests om onbekende organismen te identificeren. Deze tests worden omgezet in een biotypenummer van 6 cijfers waarvoor het codeboek een organisme-identificatie en een relatieve waarschijnlijkheid vermeldt. Zie het HNID-biotypencodeboek voor de procedure om een biotypenummer te genereren. Wanneer er voor een biotypenummer maar één organisme wordt vermeld, is de relatieve waarschijnlijkheid 99,9%. Als voor een bepaald biotypenummer meer dan één soortidentificatie mogelijk is, worden alle mogelijkheden afgedrukt op volgorde van grootste waarschijnlijkheid tot een cumulatieve totale waarschijnlijkheid van 99,9%.

Mocht er een biotypenummer optreden dat niet voorkomt in het codeboek, dan raden we aan de test te herhalen op grond van een verse cultuur. Wanneer opnieuw testen dezelfde resultaten oplevert, dient de Biotype Lookup Service op de website van Beckman Coulter te worden geraadpleegd of dient u advies in te winnen van uw plaatselijke distributeur.

PROCEDUREBEPERKINGEN

1. Indien er meer dan één soortidentificatie is vermeld voor een bepaald biotypenummer, zijn er wellicht aanvullende tests nodig voor een juiste identificatie. Tests op andere criteria zoals X- en V-factoren en aerotolerantie moeten ook worden uitgevoerd.
2. Alleen *Haemophilus*-soorten, *Neisseria*-soorten, *Branhamella catarrhalis* en *Gardnerella vaginalis* kunnen worden getest. Gebruik dit product niet voor andere coccobacil-organismen.
3. Testresultaten moeten worden geïnterpreteerd door opgeleid klinisch personeel. Hierbij moet gebruik worden gemaakt van beoordelingen, kennis en aanvullende bevestigingstests indien nodig, voordat de identificatie van een organisme wordt goedgekeurd. Zie de voetnoten in het HNID-biotypencodeboek of de microbiologiehandleiding.
4. Biotypenummers mogen niet worden gebruikt voor de fenotypische identificatie van stammen die zijn geïsoleerd van verschillende specimen van dezelfde patiënt.

- In de CLSI-richtlijnen M7-A7, Vol. 26, nr. 2 wordt een nitrocefine-gebaseerde β -lactamasetest aangeraden om te testen op *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
- Biotypegroepen voor *Haemophilus* sp. komen niet overeen met serotypen, d.w.z. *Haemophilus influenzae* II behoort niet definitief tot groep B. Serotypering is vereist.
- Soms produceren bepaalde *N. meningitidis*-stammen geen zuur uit maltose. Deze stammen kunnen leiden tot een onjuiste identificatie van *N. gonorrhoeae* als NGL ook negatief is. Zie de voetnoten in het HNID-biotypencodeboek of de microbiologiehandleiding.
- H. haemolyticus*-isolaten die zijn gekweekt op chodolade-agar, kunnen ten onrechte worden geïdentificeerd als *H. influenzae*. Hemolyse op paardenbloedagar kan worden gebruikt om *H. haemolyticus* te onderscheiden van *H. influenzae*.

VERWACHTE WAARDEN

Zie de kaart HNID-percentages positieve reacties voor de verwachte resultaten voor elke test en elke soort. (Zie tabel 3.)

Tabel 3 Waarschijnlijkheidsgrafiek HNID-percentages positieve reacties ¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Neisseria</i> -soorten	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

- Interpretatiewaarden voor positieve reacties in deze tabel zijn geen feitelijke percentages, maar zijn gebaseerd op gepubliceerde gegevens en MicroScan-resultaten.
- Haemophilus influenzae* VI-1 is het biotype van de Oberhofer-biotypelclassificatie. *Haemophilus influenzae* VI-2 is het biotype VI van de Kilian-biotypelclassificatie.¹⁸

Verwachte reacties zijn uitgedrukt door negen waarden:					
Waarde	Betekenis	Waarde	Betekenis	Waarde	Betekenis
1	Pos. reactie erg zeldzaam	25	Grootste deel reactie negatief	90	Neg. reactie ongebruikelijk
5	Pos. reactie zeldzaam	50	Pos. of neg. reactie	95	Neg. reactie zeldzaam
10	Pos. reactie ongebruikelijk	75	Grootste deel reactie positief	99	Neg. reactie erg zeldzaam

KWALITEITSCONTROLE

De zuiverheid van een cultuur moet worden gecontroleerd door van de inoculumsuspensie een subcultuur op een geschikt agarmedium te maken. De testresultaten zijn ongeldig als een gemengde cultuur wordt gedetecteerd. De aanvaardbaarheid van de identificerende media kan worden gecontroleerd door te testen met de volgende stammen: (Tabel 4.)

Tabel 4

Diagram Kwaliteitscontrole

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Er kan een positief resultaat worden verkregen met *Neisseria mucosa* ATCC 49233.
2. Er kan een positief resultaat worden verkregen met *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.
3. Er kan een positief resultaat worden verkregen met *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

GARANTIEVERKLARING

Het systeem wordt gedekt en valt onder de voorwaarden van de garantie inbegrepen in uw contractuele overeenkomst voor het systeem of de bijbehorende reagentia. De klant is verantwoordelijk voor routineprocedures van preventief onderhoud. Reparaties die voortkomen uit het niet uitvoeren van deze onderhoudsprocedures op de aangegeven tijdsintervallen vinden plaats volgens het goeddunken van Beckman Coulter en zijn voor rekening van de klant.

Verklaring van symbolen

Verklaring van symbolen			
Symbool	Titel van symbool	Beschrijving van norm	Standard
	Niet hergebruiken	Geeft aan dat een medisch apparaat bedoeld is voor eenmalig gebruik, voor gebruik bij één patiënt, gedurende één procedure.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Uiterste gebruiksdatum	De datum waarna het medische hulpmiddel niet meer mag worden gebruikt.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Batchcode	Geeft de batchcode van de fabrikant aan, waarmee de batch of partij kan worden geïdentificeerd.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Catalogusnummer	Geeft het catalogusnummer van de fabrikant aan, waarmee een medisch hulpmiddel kan worden geïdentificeerd.	ISO 15223-1, clause 5.1.6
	Fabrikant	De fabrikant van het medische hulpmiddel volgens EU-richtlijnen 90/385/EEG, 93/42/EEG en 98/79/EG.	ISO 15223-1, clause 5.1.1
	Productiedatum	Geeft de datum aan waarop het medische hulpmiddel is geproduceerd.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Gemachtigde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap	Geeft de gemachtigde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap aan.	ISO 15223-1, clause 5.1.2

Verklaring van symbolen			
Symbool	Titel van symbool	Beschrijving van norm	Standard
	Voldoende inhoud voor <n> tests	Geeft het totaal aantal IVD-tests aan dat kan worden uitgevoerd met de IVD. (Doorgaans aangegeven op reagenskit).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Medisch apparaat voor <i>in-vitro</i> diagnostiek	Geeft een medisch apparaat aan dat is bedoeld voor gebruik als medisch <i>in vitro</i> diagnoseapparaat.	ISO 15223-1, clause 5.5.1
	Temperatuurbepierking	Geeft de temperatuurlimieten aan waaraan een medisch hulpmiddel veilig kan worden blootgesteld.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Gebruiksaanstructies raadplegen	Geeft aan dat de gebruiker de gebruiksaanstructies dient te raadplegen.	ISO 15223-1; 5.4.3
	CE-markering	Regelmarkering Europese conformiteit	n.v.t.
	Inhoud	n.v.t.	n.v.t.
	Inhoud (pakket)	Antimicrobiële stof (afkorting)	n.v.t.
	Inhoud (pakket)	Identificerende stof (afkorting)	n.v.t.
	Veiligheidsinformatieblad	Geeft een veiligheidsinformatieblad aan.	n.v.t.
	Made in USA	n.v.t.	n.v.t.
	Alleen voor export	n.v.t.	n.v.t.
	Hersamenstellingsvolume	n.v.t.	n.v.t.
	Breekbaar, voorzichtig hanteren	Geeft een medisch hulpmiddel aan dat kan breken of beschadigd kan raken als het niet voorzichtig gehanteerd wordt.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Deze kant boven	Geeft de juiste staande positie aan	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Medische hulpmiddelen - Symbolen voor het gebruik met medische hulpmiddeletiketten, etikettering (labeling) en informatievoorziening - Deel 1: Algemene eisen.)			

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

MicroScan

Hướng dẫn quy trình HNID

REF B1012-10B

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Hệ thống HNID được thiết kế để định danh nhanh và phát hiện việc tạo ra β -lactamase ở loài *Neisseria*, loài *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* và *Gardnerella vaginalis*. Cũng có thể sử dụng hệ thống này để tìm kiểu sinh học của *Haemophilus influenzae* và *Haemophilus parainfluenzae*.

TÓM TẮT VÀ NGUYÊN TẮC

Các xét nghiệm sinh màu và xét nghiệm thông thường tùy chỉnh được dùng để định danh khuẩn cầu và khuẩn que Gram âm biệt dưỡng.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Chuẩn bị huyền dịch của sinh vật cần xét nghiệm ở độ đục McFarland 3 trong canh thang môi trường cấy truyền đặc biệt. Panel HNID được thủy hóa lại và cấy truyền từ canh thang và được ủ trong 4 giờ. Sau khi ủ, những thay đổi trong độ pH, việc sử dụng các cơ chất nhất định hoặc phản ứng sinh hóa khác sẽ được diễn giải để định danh. Phương pháp định phân axit nhanh được dùng để nhận biết enzym β -lactamase.^{13,14,15}

CẢNH BÁO VÀ THẬN TRỌNG

Các panel và thuốc thử HNID chỉ dùng để chẩn đoán *in vitro*. Không để Thuốc thử Peptidase hoặc Thuốc thử Indole HNID rơi vào mắt, da hay quần áo. Tuân thủ các kỹ thuật vô trùng và biện pháp phòng ngừa đã thiết lập để ngăn ngừa các mối nguy hiểm vi sinh trong toàn bộ quy trình. Đặc biệt lưu ý rằng panel đã cấy truyền có chứa sinh vật có khả năng gây bệnh.

BẢO QUẢN

Bảo quản ở nhiệt độ 2–8°C. Sau khi thủy hóa lại bằng Canh thang môi trường cấy truyền HNID, hãy thải bỏ panel nếu cơ chất bất kỳ có phản ứng dương tính. Tham khảo Bảng diễn giải kết quả sinh hóa để biết các phản ứng màu dương tính.

PHÂN LOẠI NGUY CƠ THEO GHS

Không được phân loại là nguy hiểm

SDS Bảng dữ liệu an toàn có sẵn tại techdocs.beckmancoulter.com

LẤY MẪU XÉT NGHIỆM VÀ CHUẨN BỊ

Cần lấy và đưa mẫu bệnh phẩm vào môi trường phân lập chính theo các quy trình xét nghiệm được mô tả trong *Manual of Clinical Microbiology* (Hướng dẫn vi sinh lâm sàng).¹⁶

VẬT LIỆU ĐƯỢC CUNG CẤP

Panel HNID (B1012-10B)

Hướng dẫn quy trình

Sổ mã hóa kiểu sinh học HNID

Bảng tính

VẬT LIỆU CẦN THIẾT KHÔNG ĐƯỢC CUNG CẤP

Canh thang môi trường cấy truyền HNID (B101516)

Thuốc thử Peptidase (B1012-30B)

Khay phủ (B1010-56B)

Dầu khoáng, 60 mL (B1010-40)

Dầu khoáng, 250 mL (B1010-40A) – CHỈ dùng với thiết bị WalkAway SI (và thiết bị WalkAway được nâng cấp với tính năng phủ dầu tự động)

N,N-Dimethyl- α -Naphthylamine (B1010-45A) 0,5%

Thuốc thử Indole HNID (B1015-15)

Axit sulfanilic 0,8% (B1010-44A)

Pipet 50 μ L có đầu hút vô khuẩn

Que trét gỗ hoặc que cấy vòng vô khuẩn

Chuẩn độ đục bari sunfat McFarland 3

Chuẩn độ đục bari sunfat McFarland 4

Máy trộn lắc mẫu

Buồng ủ 35–37°C, không có CO₂

Sinh vật kiểm soát chất lượng:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*
Gardnerella vaginalis ATCC 49145
Haemophilus influenzae ATCC 49144
Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146
Neisseria lactamica ATCC 49142
Neisseria mucosa ATCC 49233
Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

QUY TRÌNH

1. Chuẩn bị Panel

Lấy panel ra khỏi tủ mát và *ngay lập tức* lấy ra khỏi túi bạc. **Không được sử dụng các panel nếu không có gói hút ẩm, gói hút ẩm bị vỡ hoặc bao bì của panel không nguyên vẹn (không kín, bị thủng hoặc rách).** Để panel và Canh thang môi trường cấy truyền HNID trở về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng. Có thể xếp chồng các panel với điều kiện đặt một khay phủ sạch lên trên.

2. Chuẩn bị sinh vật

Dùng que trét vô khuẩn hoặc que cấy vòng vô khuẩn để truyền lượng vừa đủ khuẩn lạc có hình thái giống nhau từ một đĩa phân lập chính đã nuôi cấy 18–24 giờ (Máu, Sô cô la, GV hoặc thạch Thayer Martin) vào Canh thang môi trường cấy truyền HNID tương đương với Chuẩn độ đục bari sunfat McFarland 3. Đối với loài *Neisseria*, cần chuẩn bị canh thang có chuẩn độ đục bari sunfat McFarland 4. Lắc Canh thang môi trường cấy truyền trước khi cấy truyền panel. Không sử dụng canh thang dưới Chuẩn độ đục bari sunfat McFarland 3 để cấy panel HNID.

3. Cấy truyền

Truyền 50 µL (0,05 mL) Canh thang môi trường cấy truyền vào từng giếng đã dán nhãn trên panel HNID. Nên sử dụng pipet loại 50 µL có đầu hút vô khuẩn. Sau mỗi lần cấy truyền panel, MicroScan khuyến nghị nuôi cấy bậc hai 1 giọt Canh thang môi trường cấy truyền dư trên môi trường phù hợp để kiểm tra độ thuần khiết.

GHI CHÚ: Để sử dụng với các Hệ thống autoSCAN-4 và WalkAway, phải thủy hóa lại cả giếng LOC.

4. Phủ dầu sinh hóa

Dùng lọ nhỏ giọt để phủ giếng URE bằng 2–3 giọt Dầu khoáng. Môi trường trong giếng phải được phủ hoàn toàn nhưng không được tràn.

GHI CHÚ: Các thiết bị WalkAway SI (cũng như các thiết bị WalkAway được nâng cấp với tính năng phủ dầu tự động) sẽ tự động thêm dầu vào các giếng URE.

5. Ủ

Ủ các panel đã cấy truyền trong 4 giờ ở nhiệt độ 35–37°C trong buồng ủ không có CO₂. Xếp các panel thành từng nhóm 4 đến 5 panel, đặt panel trên cùng bằng Khay phủ để tránh bay hơi.

6. Đọc panel bằng mắt thường hoặc bằng touchSCAN

- A. Sau khi ủ 4 giờ ở nhiệt độ 35–37°C, phải đọc các xét nghiệm không yêu cầu thêm thuốc thử (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA và BL) trước.
- B. Thêm thuốc thử như sau:
 - a. PRO, NGL, ZAR
Thêm 1 giọt Thuốc thử Peptidase vào các giếng PRO, NGL và ZAR. Đợi 3–5 phút để phản ứng màu phát triển.
 - b. NO₃, NO₂
Thêm 1 giọt Axit sulfanilic 0,8% và 1 giọt N,N-Dimethyl-α-Naphthylamine 0,5% vào giếng NO₃ và NO₂. Đợi 3–5 phút để phản ứng màu phát triển.
 - c. IND
Thêm 1–2 giọt Thuốc thử Indole HNID vào giếng IND. Màu sẽ hình thành ngay lập tức.
- C. Diễn giải phản ứng theo Bảng diễn giải kết quả sinh hóa và ghi kết quả vào phiếu ghi kết quả xét nghiệm được cung cấp hoặc nhập phản ứng dương tính thông qua máy đọc touchSCAN.

Bảng 1, Cơ chất

Cơ chất	Chữ viết tắt	Cơ chất	Chữ viết tắt
Indoxyl phosphat	IDX	Urê	URE
Nitrat	NO ₃	Ornithine	ORN

*Bảo tàng giống chuẩn Hoa Kỳ (American Type Culture Collection), Manassas, VA USA

Cơ chất	Chữ viết tắt	Cơ chất	Chữ viết tắt
Nitrit	NO ₂	Indole	IND
Glucose	GLU	L-Prolyl-β-Naphthylamide	PRO
Sucrose	SUC	N-γ-L-Glutamyl-β-Naphthylamide	NGL
Maltose	MAL	N-α-Benzoyl-DL-Arginine-β-Naphthylamide	ZAR
Fructose	FRU	p-Nitrophenyl-α-D-glucoside	AGL
Lactose	LAC	Tinh bột	STA
o-Nitrophenyl-β-D-Galactoside	GAL	β-Lactamase (Penicillin)	BL

7. Đọc panel bằng autoSCAN-4

- Sau khi ủ 4 giờ ở nhiệt độ 35–37°C, phủ các giếng GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA và BL bằng dầu khoáng trước khi thêm thuốc thử.
- Thêm thuốc thử như sau:
 - PRO, NGL, ZAR
Thêm 1 giọt Thuốc thử Peptidase vào các giếng PRO, NGL và ZAR. Đợi 3–5 phút để phản ứng màu phát triển.
 - NO₃, NO₂
Thêm 1 giọt Axit sulfanilic 0,8% và 1 giọt N,N-Dimethyl-α-Naphthylamine 0,5% vào giếng NO₃ và NO₂. Đợi 3–5 phút để phản ứng màu phát triển.
 - IND
Thêm 1–2 giọt Thuốc thử Indole HNID vào giếng IND. Màu sẽ hình thành ngay lập tức.
- Sau khi để từng phản ứng phát triển trong khoảng thời gian phù hợp, hãy đưa panel vào autoSCAN-4 để đọc.

8. Đọc panel bằng Hệ thống WalkAway

- Sau khi ủ 4 giờ, hãy đọc các xét nghiệm không yêu cầu thêm thuốc thử (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA và BL) trước.
- Sau đó, WalkAway sẽ thêm thuốc thử phù hợp vào các giếng sau đây: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ và IND. Sau đó, các phản ứng này sẽ được diễn giải.

GHI CHÚ: WalkAway đọc các giếng không yêu cầu thuốc thử trước để tránh trường hợp kết quả bị thay đổi do hơi của thuốc thử có thể đọng ở dưới nắp đáy khay. Trong trường hợp đó, không thể xác minh các chất sinh hóa theo cách thủ công.

KẾT QUẢ

Bảng 2

Bảng diễn giải kết quả sinh hóa			
Giếng	Dương tính	Âm tính	Lưu ý
IDX	Kết tủa lam đến xám	Trong	
NO ₃	Hồng, đỏ đến đỏ tươi	Trong suốt đến vàng	Kết quả được ghi sau 3–5 phút.
NO ₂	Trong suốt đến vàng	Hồng, đỏ đến đỏ tươi	Kết quả được ghi sau 3–5 phút.
GLU SUC LAC	Cam đến vàng	Đỏ đến đỏ/cam	Mọi sắc đỏ phải được ghi là âm tính.
FRU	Vàng đến vàng/cam	Đỏ đến cam	Mọi sắc vàng phải được ghi là dương tính.
MAL	Vàng	Đỏ đến vàng/cam	
GAL	Vàng	Trong	Màu vàng nhạt là dương tính. Dùng giếng IND trước khi thêm thuốc thử là giếng kiểm chuẩn âm tính.
URE	Đỏ đến đỏ tươi	Vàng đến hồng nhạt	
ORN	Xanh lục đến xanh lam	Vàng đến vàng/lục	Mọi sắc vàng phải được ghi là âm tính.
IND	Vòng đỏ	Vàng	Mọi sắc đỏ phải được ghi là dương tính.
PRO NGL ZAR	Đỏ đến đỏ tươi	Vàng đến cam	Kết quả được ghi sau 3–5 phút. Phản ứng ZAR yếu được nhận biết bằng dạng vẩn đục.
AGL	Vàng	Trong	Mọi sắc vàng phải được ghi là dương tính. Dùng giếng IND trước khi thêm thuốc thử là giếng kiểm chuẩn âm tính.
STA BL	Vàng đến vàng/cam	Đỏ đến cam	Mọi sắc vàng phải được xem là dương tính.
LOC	Để căn chỉnh panel đọc bằng Hệ thống autoSCAN-4 và WalkAway		

Phản ứng

Indoxyl phosphatase (IDX) – Phosphatase kiềm tách indoxyl phosphat để giải phóng indoxyl. Chất này sẽ kết hợp với oxy phân tử để tạo thành hợp chất màu lam không hòa tan.

Nitrat (NO₃) – Khả năng khử nitrat thành nitrit của sinh vật được phát hiện bằng cách thêm Axit sulfanilic và sau đó là N,N-Dimethyl- α -Naphthylamine, sẽ tạo ra màu đỏ khi có mặt nitrit.

Nitrit (NO₂) – Nhận biết khả năng khử nitrit của sinh vật để giải phóng khí nitơ bằng cách thêm Axit sulfanilic và N,N-Dimethyl- α -Naphthylamine. Khi có nitrit, màu đỏ sẽ phát triển, chứng tỏ là một xét nghiệm âm tính. Nếu không bắt màu, nghĩa là nitrit đã bị khử và xét nghiệm là xét nghiệm dương tính.

Sử dụng hydrat-cacbon (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) – Sử dụng hydrat-cacbon đặc hiệu sẽ tạo thành axit làm cho độ pH giảm được nhận biết bằng chỉ thị phenol đỏ.

β -Galactosidase (GAL) – β -galactosidase thủy phân o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside giải phóng o-nitrophenol màu vàng.

α -Glucosidase (AGL) – α -glucosidase thủy phân p-nitrophenyl- α -D-glucoside giải phóng p-nitrophenol màu vàng.

Urê (URE) – Enzym xúc tác thủy phân urê thành amoniac làm cho độ pH tăng được nhận biết bằng chỉ thị phenol đỏ.

Ornithine (ORN) – Ornithine bị khử cacboxyl làm kiềm hóa môi trường được nhận biết bằng chỉ thị pH bromthymol màu lam.

Indole (IND) – Tryptophan chuyển hóa sẽ tạo thành indole được nhận biết bằng cách thêm Thuốc thử Indole HNID. Nếu có indole, một vòng màu đỏ sẽ hình thành.

Peptidase (PRO, NGL, ZAR) – Xác định khả năng sinh vật tạo ra enzym peptidase đặc hiệu bằng cách tách axit amin phù hợp từ liên kết của nó với β -naphthylamide. Sau đó, nhận biết β -naphthylamide tự do bằng cách phức hợp với p-dimethylaminocinnamaldehyde để tạo ra màu đỏ đến đỏ tươi.

β -Lactamase (BL) – Pencillin G bị β -lactamase giáng cấp thành Axit penicilloic. Nhận biết độ pH thay đổi bằng chỉ thị phenol đỏ.

Định danh sinh vật

Sổ mã hóa kiểu sinh học HNID của MicroScan được dùng để định danh các sinh vật xét nghiệm chưa xác định. Sổ mã hóa này được tạo từ cơ sở dữ liệu thông tin của MicroScan được tổng hợp từ các xét nghiệm trên panel HNID.

Sổ mã hóa kiểu sinh học cung cấp phân tích của 17 xét nghiệm bằng máy tính để định danh sinh vật chưa xác định. Kết quả xét nghiệm được dịch thành “số kiểu sinh học” gồm 6 chữ số. Sổ mã hóa sử dụng số kiểu sinh học này để liệt kê định danh sinh vật và xác suất tương đối. Tham khảo Sổ mã hóa kiểu sinh học HNID để biết quy trình tạo số kiểu sinh học. Khi số kiểu sinh học chỉ có một sinh vật thì xác suất tương đối là 99,9%. Nếu một số kiểu sinh học cụ thể có nhiều định danh loài thì tất cả các khả năng sẽ được in theo thứ tự xác suất cao nhất. Tổng xác suất lên tới 99,9%.

Nếu một số kiểu sinh học không có trong Sổ mã hóa, bạn nên làm lại xét nghiệm từ một môi trường cấy truyền mới. Nếu xét nghiệm lại vẫn cho kết quả như vậy, hãy tham vấn Dịch vụ Biotype Lookup (Tra cứu kiểu sinh học) trên trang web của Beckman Coulter hoặc liên hệ với nhà phân phối tại địa phương.

GIỚI HẠN CỦA QUY TRÌNH

1. Nếu một số kiểu sinh học cụ thể có nhiều định danh loài, có thể cần xét nghiệm bổ sung để định danh chính xác. Cũng nên tiến hành xét nghiệm theo tiêu chí khác, chẳng hạn như các hệ số X và V cũng như mức độ hiếu khí.
2. Chỉ có thể xét nghiệm loài *Haemophilus*, loài *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* và *Gardnerella vaginalis* – không sử dụng sản phẩm này cho các sinh vật cầu trực khuẩn khác.
3. Người diễn giải kết quả xét nghiệm phải được đào tạo lâm sàng, phải sử dụng phán đoán, kiến thức và xét nghiệm xác nhận bổ sung, nếu cần, trước khi chấp nhận định danh của một sinh vật. Vui lòng tham khảo các chú thích ở cuối trang trong Sổ mã hóa kiểu sinh học HNID hoặc Microbiology Information Manual (Hướng dẫn thông tin vi sinh).
4. Không được sử dụng số kiểu sinh học để định danh kiểu hình các chủng đã phân lập từ nhiều mẫu xét nghiệm khác nhau của cùng một bệnh nhân.
5. Hướng dẫn M7-A7, Cuốn 26, Số 2 của CLSI khuyến nghị xét nghiệm β -Lactamase gốc nitrocefim để xét nghiệm *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
6. Các nhóm kiểu sinh học cho *Haemophilus* sp. không tương quan với các kiểu huyết thanh, tức là *Haemophilus influenzae* II không hoàn toàn thuộc nhóm B. Cần xét nghiệm xác định kiểu huyết thanh.
7. Đôi khi, một số chủng *N. meningitidis* không tạo ra axit từ maltose. Các chủng này có thể cho định danh *N. gonorrhoeae* không chính xác nếu giống NGL cũng âm tính. Vui lòng tham khảo các chú thích ở cuối trang trong Sổ mã hóa kiểu sinh học HNID hoặc Microbiology Information Manual (Hướng dẫn thông tin vi sinh).
8. Chủng vi khuẩn phân lập *H. haemolyticus* sinh trưởng trên thạch sô cô la cũng có thể bị định danh sai là *H. influenzae*. Có thể sử dụng hiện tượng tiêu máu trên thạch máu ngựa để phân biệt *H. haemolyticus* với *H. influenzae*.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Tham khảo bảng Phần trăm phản ứng dương tính HNID để biết kết quả dự kiến cho từng xét nghiệm và từng loài. (Xem Bảng 3.)

Bảng 3 Bảng xác suất Phần trăm phản ứng dương tính HNID¹																	
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA
<i>Haemophilus influenzae I</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae II</i>	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1
<i>H. influenzae III</i>	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. influenzae IV</i>	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae V</i>	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-1²</i>	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. influenzae VI-2²</i>	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae I</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae II</i>	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae III</i>	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1
<i>H. parainfluenzae IV</i>	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>N. mucosa (NIT +)</i>	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
Loài <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99

- Giá trị diễn giải phản ứng dương tính trình bày trong bảng này không phải các phần trăm thực tế mà dựa trên dữ liệu đã phát hành và kết quả của MicroScan.
- Haemophilus influenzae VI-1* là Kiểu sinh học của phân loại kiểu sinh học Oberhofer. *Haemophilus influenzae VI-2* là Kiểu sinh học VI của phân loại kiểu sinh học Kilian.¹⁸

Các phản ứng dự kiến được trình bày bằng chín giá trị:					
Giá trị	Ý nghĩa	Giá trị	Ý nghĩa	Giá trị	Ý nghĩa
1	Rất hiếm phản ứng dương tính	25	Phần lớn phản ứng âm tính	90	Phản ứng âm tính không phổ biến
5	Hiếm phản ứng dương tính	50	Phản ứng dương tính hoặc âm tính	95	Hiếm phản ứng âm tính
10	Phản ứng dương tính không phổ biến	75	Phần lớn phản ứng dương tính	99	Phản ứng âm tính rất hiếm

KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Phải kiểm tra độ thuần khiết nuôi cấy bằng cách nuôi cấy bậc hai từ huyền dịch môi trường cấy truyền trên một môi trường thạch phù hợp. Kết quả xét nghiệm không hợp lệ nếu phát hiện có nuôi cấy hỗn hợp. Có thể kiểm tra khả năng chấp nhận của môi trường định danh bằng cách xét nghiệm với các chủng sau đây: (Bảng 4.)

Bảng 4

Bảng kiểm soát chất lượng

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

- Có thể thu được kết quả dương tính với *Neisseria mucosa* ATCC 49233.
- Có thể thu được kết quả dương tính với *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.

3. Có thể thu được kết quả dương tính với *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

TUYÊN BỐ BẢO HÀNH

Hệ thống được bảo hành và phải tuân theo các điều khoản bảo hành bao gồm trong thỏa thuận hợp đồng của bạn đối với hệ thống hoặc thuốc thử của hệ thống. Khách hàng chịu trách nhiệm về các quy trình bảo dưỡng dự phòng định kỳ. Beckman Coulter có quyền quyết định việc thực hiện các công việc sửa chữa phát sinh do không tiến hành những quy trình bảo trì này theo đúng khoảng thời gian quy định và khách hàng phải thanh toán chi phí sửa chữa đó.

Bảng chú giải các ký hiệu

Bảng chú giải các ký hiệu			
Ký hiệu	Tên ký hiệu	Mô tả về tiêu chuẩn	Chuẩn
	Không sử dụng lại	Biểu thị thiết bị y tế chỉ được chế tạo cho một lần sử dụng hoặc sử dụng cho một bệnh nhân trong một quy trình duy nhất.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Sử dụng trước ngày	Biểu thị ngày hết hạn sử dụng thiết bị y tế.	ISO 15223-1; 5.1.4
	Mã lô	Biểu thị mã lô của nhà sản xuất, có thể dùng để xác định lô hoặc mẻ.	ISO 15223-1; 5.1.5
	Số danh mục	Biểu thị số danh mục của nhà sản xuất, có thể dùng để xác định thiết bị y tế.	ISO 15223-1, khoản 5.1.6
	Nhà sản xuất	Biểu thị nhà sản xuất thiết bị y tế, như định nghĩa trong Chỉ thị 90/385/EEC, 93/42/EEC và 98/79/EC của Liên minh Châu Âu.	ISO 15223-1, khoản 5.1.1
	Ngày sản xuất	Biểu thị ngày sản xuất thiết bị y tế.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Đại diện được ủy quyền tại Cộng đồng Châu Âu	Biểu thị đại diện được ủy quyền tại Cộng đồng Châu Âu.	ISO 15223-1, khoản 5.1.2
	Đủ dùng cho <n> xét nghiệm	Biểu thị tổng số xét nghiệm IVD có thể thực hiện với IVD. (Thường thấy trên các bộ thuốc thử).	ISO 15223-1; 5.5.5
	Thiết bị y tế chẩn đoán <i>In Vitro</i>	Biểu thị thiết bị y tế được thiết kế để dùng làm thiết bị y tế chẩn đoán <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, khoản 5.5.1
	Giới hạn nhiệt độ	Biểu thị các giới hạn nhiệt độ mà thiết bị y tế có thể tiếp xúc an toàn.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Tham khảo Hướng dẫn sử dụng	Biểu thị rằng người dùng cần tham khảo hướng dẫn sử dụng.	ISO 15223-1; 5.4.3
	Dấu CE	Dấu quy định tuân thủ ở Châu Âu	không áp dụng
	Thành phần	không áp dụng	không áp dụng
	Hóa chất bên trong (bao bì)	Chất kháng sinh (viết tắt)	không áp dụng
	Hóa chất bên trong (bao bì)	Cơ chất định danh (viết tắt)	không áp dụng

Bảng chú giải các ký hiệu			
Ký hiệu	Tên ký hiệu	Mô tả về tiêu chuẩn	Chuẩn
	Bảng dữ liệu an toàn	Biểu thị bảng dữ liệu an toàn.	không áp dụng
	Sản xuất tại Mỹ	không áp dụng	không áp dụng
	Chỉ dùng cho xuất khẩu	không áp dụng	không áp dụng
	Thẻ tích hoàn nguyên	không áp dụng	không áp dụng
	Dễ vỡ, thận trọng khi cầm nắm	Biểu thị thiết bị y tế có thể bị vỡ hoặc hư hỏng nếu không cầm nắm cẩn thận.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Mặt này hướng lên trên	Biểu thị cách đặt thùng hàng thẳng đứng đúng hướng	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices – Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Thiết bị y tế – Các ký hiệu sẽ dùng với nhãn thiết bị y tế, việc dán nhãn và thông tin được cung cấp. Phần 1: Yêu cầu chung).			

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm và dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong văn bản này đều là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu được đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

MicroScan

Прирачник за постапки на HNID

REF B1012-10B

НАМЕНА

Системот HNID е наменет за брза идентификација и детекција на производство на β -лактамаза во видовите *Neisseria*, *Haemophilus*, *Branhamella catarrhalis* и *Gardnerella vaginalis*. Може да се изврши и биотипизација на *Haemophilus influenzae* и *Haemophilus parainfluenzae*.

КРАТОК ПРЕГЛЕД И ПРИНЦИП

За идентификација на брзорастечки грам-негативни коки и бацили се користат променети конвенционални и хромогени тестови.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12} Во специјален бујон со инокулум се прави суспензија од Мекфарланд 3 за организмите што треба да се тестираат. Се врши повторна рехидратација и засевање на HNID-панел од бујонот и се врши инкубација во период од 4 часа. По инкубацијата, се толкуваат промените во pH-вредноста и користењето одредени супстрати или други биохемиски реакции заради идентификација. Се користи брз ацидометриски метод за детекција на ензимот β -лактамаза.^{13,14,15}

ПРЕДУПРЕДУВАЊЕ И МЕРКИ НА ПРЕТПАЗЛИВОСТ

HNID-панелите и реагенсите се само за *in vitro* дијагностика. Не дозволувајте реагенсот пептидаза или реагенсот HNID-индол да дојде во контакт со очи, кожа или алишта. Придржувајте се до асептичните техники и до утврдените мерки на претпазливост во однос на микробиолошки опасности во текот на цела постапка, со посебна забелешка дека засеаните панели содржат потенцијално патогени организми.

СКЛАДИРАЊЕ

Да се чува на температура 2 – 8°C. По рехидратација со HNID-бујон со инокулум, занемарете го панелот ако изгледа дека некој супстрат има позитивна реакција. Видете во дијаграмот за биохемиско толкување во врска со позитивните реакции со боја.

КЛАСИФИКАЦИЈА НА ГХС ОПАСНОСТИ

Не е класифицирано како опасно

SBS Листот со податоци за безбедност е достапен на techdocs.beckmancoulter.com

СОБИРАЊЕ И ПОДГОТОВКА НА ПРИМЕРОЦИ

Примероците се собираат и се поставуваат на примарни изолациски медиуми според лабораториските процедури опишани во *Manual of Clinical Microbiology* (Прирачник за клиничка микробиологија).¹⁶

ОБЕЗБЕДЕНИ МАТЕРИЈАЛИ

HNID-панел (B1012-10B)

Прирачник за постапки

HNID Biotype Codebook (Шифрарник за HNID-биотип)

Работен лист

ПОТРЕБНИ МАТЕРИЈАЛИ ШТО НЕ СЕ ОБЕЗБЕДЕНИ

HNID-бујон од инокулум (B1015-16)

Реагенс пептидаза (B1012-30B)

Сад со капак (B1010-56B)

Минерално масло, 60 mL (B1010-40)

Минерално масло, 250 mL (B1010-40A) – CAMO за користење со инструментите *SI WalkAway* (и за инструментите *WalkAway* надградени со функција за автоматско прекривање со масло)

0,5% N, N-диметил- α -нафтамин (B1010-45A)

HNID-реагенс за индол (B1015-15)

0,8% сулфалинска киселина (B1010-44A)

Капалка од 50 μ L со стерилни врвови

Стерилни дрвени стапчиња за апликација или стерилна јамка за засевање

Мекфарландов стандард на заматеност бр. 3 за бариум сулфат

Мекфарландов стандард на заматеност бр. 4 за бариум сулфат

Мешалка за вртлог

Инкубатор на 35 – 37°C без CO₂

Организми за контрола на квалитет:

Branhamella catarrhalis ATCC 49143*

Gardnerella vaginalis ATCC 49145

Haemophilus influenzae ATCC 49144

Haemophilus paraphrophilus ATCC 49146

Neisseria lactamica ATCC 49142

Neisseria mucosa ATCC 49233

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 49130

ПРОЦЕДУРА

1. Подготовка на панел

Извадете го панелот од ладилникот и веднаш отстранете ја фолијата. **Не треба да се користат панелите ако нема вливач на влага, ако е скршен или ако е нарушена целокупноста на амбалажата (незапечатена, продупчена или искината).** Оставете ги панелот и HNID-бујонот за инокулум да се приспособат на собна температура пред да ги користите. Панелите може да бидат наредени и покриени со чист капак од садот.

2. Подготовка на организмот

Со помош на стерилно стапче за апликација или стерилна јамка за засевање, префрлете доволно морфолошки слични колонии од примарна плоча за изолација која стоела 18 – 24 часа (Blood, Chocolate, GV или Thayer Martin Agar) во HNID-бујон за инокулум што може да се споредува со стандардот на Мекфарланд бр. 3 за заматеност на бариум сулфат. За видовите *Neisseria*, пожелен е стандардот Мекфарланд бр. 4 за заматеност на бариум сулфат. Измешајте го бујонот од инокулум пред да го засевате панелот. Не користете стандард на Мекфарланд за заматеност на бариум сулфат понизок од бр. 3 за засевање на кои било HNID-панели.

3. Засевање

Префрлете 50 µL (0,05 mL) од бујонот со инокулум во секое означено бунарче од HNID-панелот. Треба да се користи капалка од 50 µL со стерилен врв. По секое засевање на панел, MicroScan препорачува да се капне 1 капка подкултура од прекумерниот бујон со инокулум во соодветен медиум како проверка за чистотија.

НАПОМЕНА: за користење со системите autoSCAN-4 и WalkAway, и бунарчето LOC мора да биде рехидрирано.

4. Биохемиско прекривање со масло

Користејќи шишенце со пипета, прекријте ги бунарчињата URE со најмалку 2 – 3 капки минерално масло. Медиумите во бунарчето треба да бидат целосно покриени, но бунарчето не смее да биде преполнето.

НАПОМЕНА: инструментите WalkAway SI (и инструментите WalkAway надградени со функција на автоматско прекривање со масло) автоматски додаваат масло во бунарчето URE.

5. Инкубација

Вршете инкубација на засеаниот панел 4 часа на 35 – 37°C во инкубатор без CO₂. Наредете ги панелите во групи од 4 до 5 со капак од садот над горниот панел за да спречите испарување.

6. Визуелно или читање панел touchSCAN

A. По инкубација од 4 часа при 35 – 37°C, прво треба да се читаат тестовите за кои не треба додавање реагенси (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA и BL).

B. Додајте реагенси како што следува:

a. PRO, NGL, ZAR

Додајте 1 капка реагенс пептидаза во бунарчињата PRO, NGL и ZAR. Почекајте 3 – 5 минути за да се развие боја за реакцијата.

b. NO₃, NO₂

Додајте 1 капка 0,8% сулфанилска киселина и 1 капка 0,5% N, N-диметил-α-нафтиламин во бунарчињата за NO₃ и NO₂. Почекајте 3 – 5 минути за да се развие боја за реакцијата.

c. IND

Додајте 1 – 2 капки HNID-реагенс за индол во бунарчето IND. Веднаш ќе се развие боја.

C. Толкувајте ги реакциите според дијаграмот за биохемиско толкување и забележете ги резултатите на приложениот лист или внесете ги позитивните реакции преку читач touchSCAN.

Табела 1, Супстрати

Супстрати	Скрат.	Супстрати	Скрат.
Индоксил фосфат	IDX	Уреа	URE
Нитрат	NO ₃	Орнитин	ORN
Нитрит	NO ₂	Индол	IND
Гликоза	GLU	L-пролил-β-нафтиламид	PRO
Сахароза	SUC	N-γ-L-глутамил-β-нафтиламид	NGL
Малтоза	MAL	N-α-бензоил-DL-Аргинин-β-нафтиламид	ZAR
Фруктоза	FRU	p-нитрофенил-α-D-гликозид	AGL
Лактоза	LAC	Скроб	STA
o-нитрофенил-β-D-галактозид	GAL	β-лактамаза (пеницилин)	BL

7. Читање панел од autoSCAN-4

- A. По инкубација од 4 часа при 35 – 37°C, прекријте ги GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA и BL со минерално масло пред додавањето реагенси.
- B. Додајте реагенси како што следува:
 - a. PRO, NGL, ZAR
Додајте 1 капка реагенс пептидаза во бунарчињата PRO, NGL и ZAR. Почекајте 3 – 5 минути за да се развие боја за реакцијата.
 - b. NO₃, NO₂
Додајте 1 капка 0,8% сулфанилска киселина и 1 капка 0,5% N, N-диметил-α-нафтиламин во бунарчињата за NO₃ и NO₂. Почекајте 3 – 5 минути за да се развие боја за реакцијата.
 - c. IND
Додајте 1 – 2 капки HNID-реагенс за индол во бунарчето IND. Веднаш ќе се развие боја.
- C. По секоја реакција што се јавува за соодветен временски период, вметнете го панелот во autoSCAN-4 за читање.

8. Читање панели кај системите WalkAway

- A. По инкубација од 4 часа, прво се читаат тестовите за кои не треба додавање реагенси (IDX, GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, GAL, URE, ORN, AGL, STA и BL).
- B. WalkAway потоа ги додава соодветните реагенси на следниве: PRO, NGL, ZAR, NO₃, NO₂ и IND. Потоа се толкуваат овие реакции.

НАПОМЕНА: WalkAway чита бунарчиња коишто не бараат прво реагенси за да се спречат изменети резултати поради испарувањата на реагенсот што може да останат под капакот на фиоката. Поради тоа, биохемикалите не може да се потврдат рачно.

РЕЗУЛТАТИ

Табела 2

Дијаграм за биохемиско толкување			
Бунарче	Позитивно	Негативно	Забелешки
IDX	Талог Сино кон сиво	Исчисти	
NO ₃	Розева, Црвена во магента	Исчисти до жолто	Резултати забележани по 3 – 5 минути.
NO ₂	Исчисти до жолто	Розева, Црвена во магента	Резултати забележани по 3 – 5 минути.
GLU SUC LAC	Портокалово кон жолто	Црвено кон црвено/портокалово	Секоја црвена боја треба да биде забележана како негативна.
FRU	Жолта до жолто/портокалова	Црвено кон портокалово	Секоја жолта боја треба да биде забележана како позитивна.
MAL	Жолто	Црвено кон жолто/портокалово	
GAL	Жолто	Исчисти	Бледо жолто е позитивно. Употребете го бунарчето IND пред да додадете реагенс како негативна контрола.
URE	Црвена кон магента	Жолто кон светло розево	
ORN	Зелено до сино	Жолто кон жолто/зелено	Секоја жолта боја треба да биде забележана како негативна.

Дијаграм за биохемиско толкување

Бунарче	Позитивно	Негативно	Забелешки
IND	Црвен прстен	Жолто	Секоја црвена боја треба да биде забележана како позитивна.
PRO NGL ZAR	Црвена кон магента	Жолта до портокалова	Резултатите треба да се забележуваат во рок од 3 до 5 минути. Слабата реакција на ZAR е индицирана со заматен изглед.
AGL	Жолто	Исчисти	Секоја жолта боја треба да биде забележана како позитивна. Употребете го бунарчето IND пред додавање реагенс како негативна контрола.
STA BL	Жолта до жолто/портокалова	Црвено кон портокалово	Секоја жолта боја треба да се смета како позитивна.
LOC	Само за порамнување панели на системите autoSCAN-4 и WalkAway		

Реакции

Indoxyl Phosphatase (IDX) – Алкалната фосфатаза го дели индоксил фосфатот на слободен индоксил, а тој се комбинира со молекуларен кислород за да формира нерастворливо сино соединение.

Нитрат (NO_3) – Способноста на организмот да го редуцира нитратот на нитрит се детектира со додавање сулфалинска киселина и N, N-диметил- α -нафтиламин, којшто продуцира црвена боја во присуство на нитрити.

Нитрит (NO_2) – Способноста на организмот да го намали нитритот до слободен азотен гас се открива со додавање сулфалинска киселина и N, N-диметил- α -нафтиламин. Во присуство на нитрит се добива црвена боја, а тоа е негативен тест. Ако не се добие боја, нитритот е намален и тестот е позитивен.

Употреба на карбохидрат (GLU, SUC, MAL, FRU, LAC, STA) – Употребата на специфични карбохидрати предизвикува создавање киселина со последователно опаѓање на pH-вредноста што се покажува на индикатор за црвен фенол.

β -галактосидаза (GAL) – β -галактосидазата го хидролизира о-нитрофенил- β -D-галактопиранозидот, со што се ослободува жолт о-нитрофенол.

α -гликозидаза (AGL) – α -гликозидаза го хидролизира р-нитрофенил- α -D-гликозид и се ослободува жолто обоен р-нитрофенол.

Уреа (URE) – Ензимот уреаза ја дели уреата формирајќи амонијак и зголемувајќи ја pH-вредноста којашто се детектира со индикатор за црвен фенол.

Орнитин (ORN) – Декарбоксилацијата на орнитин доведува во алкализација на медиумите, а тоа се детектира со сина боја на pH-индикаторот за бротимол.

Индол (IND) – Метаболизмот на триптофан предизвикува формирање индол, којшто се детектира со додавање HNID-реагенс за индол. Ако е присутен индол, ќе се оформи црвен прстен.

Пептидази (PRO, NGL, ZAR) – Способноста на организмот да произведува специфичен ензим пептидаза се одредува со разделување на соодветната аминокиселина од нејзината врска со β -нафтиламид. Потоа слободниот β -нафтиламид се детектира со врзување со р-диметиламиносиномалдехид давајќи боја црвено кон магента.

β -лактамаза (BL) – β -лактамазата го разградува пеницилинот до пеницилоична киселина. Промената на pH се детектира со менување на бојата на индикаторот за црвен фенол.

Идентификација на организмот

HNID Biotype Codebook (Шифрарникот за биотипови HNID) од MicroScan се користи за идентификација на непознати тест-организми. Овој шифрарник е генериран од базата на податоци на MicroScan со информации собрани од тестови на HNID-панел.

Шифрарникот на биотипови овозможува компјутерска анализа на 17 тестови за идентификација на непознати организми. Овие тестови се преведени како 6-цифрен „број на биотип“ за кој во шифрарникот се наведени идентификацијата на организмот и неговата релативна веројатност. Видете во HNID Biotype Codebook (Шифрарникот за биотипови HNID) во врска со процедурата за генерирање број на биотип. Кога ќе биде наведен само еден организам за број на биотип, релативната веројатност е 99,9%. Ако е можна идентификација на повеќе организми за одреден број на биотип, ќе се отпечатат сите можности со редослед од највисока веројатност до кумулативна вкупна веројатност од 99,9%.

Ако се појави број на биотип којшто го нема во шифрарникот, препорачуваме да се повтори тестот со свежа култура. Ако и при повторното тестирање се добијат исти резултати, обратете се во Biotype Lookup Service (Службата за пребарување биотипови) на веб-локацијата од Backman Coulter или кај локалниот дистрибутер.

ОГРАНИЧУВАЊЕ НА ПОСТАПКАТА

- Ако биде наведена идентификација на повеќе од еден вид за одреден број на биотип, можеби ќе бидат потребни дополнителни тестови за точна идентификација. Треба да се изврши и тестирање за други критериуми, како што се X и V фактори и аеротолеранција.

- Може да се тестираат само видовите *Haemophilus*, *Neisseria*, *Branhamella catarrhalis* и *Gardnerella vaginalis* – не користете го апаратот за други кокобацилни организми.
- Кога ќе треба, резултатите од тестот треба да ги толкува обучен клинички персонал што треба да примени процена, знаење и дополнително тестирање за потврдување пред да се прифати идентификацијата на организмите. Видете во фусотите наведени во HNID Biotype Codebook (Шифрарникот за биотип HNID) или во Microbiology Information Manual (Прирачникот за микробиолошки информации).
- Броевите на биотип не смеат да се користат за фенотипична идентификација на соеви изолирани од различни примероци земени од ист пациент.
- Насоките од CLSI M7-A7, Гл. 26, бр. 2, препорачуваат тест за β -лактамаза врз основа на нитроцефин за тестирање *Branhamella catarrhalis*.¹⁷
- Групите на биотип за видот *Haemophilus* sp. се во корелација со серотипови, т.е. *Haemophilus influenzae* II не е задолжително серотип од група Б ако треба.
- Понекогаш, некои соеви на *N. meningitidis* не произведуваат киселина од малтоза. Тие видови може да дадат погрешна идентификација на *N. gonorrhoeae* ако и NGL е негативен. Видете во фусотите наведени во HNID Biotype Codebook (Шифрарникот за биотип HNID) или во Microbiology Information Manual (Прирачникот за микробиолошки информации).
- H. haemolyticus* што го изолира растот на чоколаден агар може неправилно да биде идентификувана како *H. influenzae*. Може да се користи хемолиза на агар од коњска крв за да се прави разлика помеѓу *H. haemolyticus* и *H. influenzae*.

ОЧЕКУВАНИ ВРЕДНОСТИ

Видете во дијаграмот на позитивни реакции за процент на HNID во врска со очекуваните резултати за секој тест и за секој вид. (Види Табела 3.)

Табела 3 Дијаграм за веројатност Позитивни реакции за процент на HNID ¹																		
	IDX	NO ₃	NO ₂	GLU	SUC	MAL	FRU	LAC	GAL	URE	ORN	IND	PRO	NGL	ZAR	AGL	STA	
<i>Haemophilus influenzae</i> I	99	99	10	95	1	5	90	1	1	99	99	99	50	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> II	99	99	5	95	1	10	90	1	1	99	1	99	50	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> III	99	99	5	95	1	25	75	1	1	99	1	1	25	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> IV	99	99	1	95	1	10	95	1	1	99	99	1	10	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> V	99	99	10	95	1	5	90	1	1	1	99	99	10	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> VI-1 ²	99	99	1	95	1	1	75	1	1	1	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. influenzae</i> VI-2 ²	99	1	1	95	1	1	75	1	1	1	1	99	25	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> I	99	99	1	95	95	95	95	1	75	1	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> II	99	99	50	95	95	95	95	1	50	99	99	1	1	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> III	99	99	25	95	95	95	95	10	50	99	1	1	25	1	1	1	1	
<i>H. parainfluenzae</i> IV	99	99	1	95	95	95	95	1	25	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>H. aphrophilus/paraphrophilus</i>	99	99	25	95	95	95	95	95	95	1	1	1	10	99	1	75	1	
<i>H. haemolyticus</i>	99	99	1	95	1	95	95	1	1	95	50	95	1	1	1	1	1	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	25	95	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>N. meningitidis</i>	1	1	50	95	1	95	1	1	1	1	1	1	99	99	1	1	1	
<i>N. lactamica</i>	1	1	50	95	1	95	1	95	99	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>N. mucosa</i> (NIT +)	1	99	99	75	95	95	75	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
Видови <i>Neisseria</i>	1	1	95	90	90	95	90	10	1	1	1	1	99	10	10	1	1	
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	75	95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	99	1	1	1	1	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	1	1	95	75	95	95	50	50	1	1	1	99	1	1	99	99	

1. Толкувањето на вредностите од позитивните реакции прикажани на оваа табела не се вистинските проценти, туку претставување врз база на објавени податоци и резултати од MicroScan.

2. *Haemophilus influenzae* VI-1 е биотип од класификацијата на биотипови според Оберхофер. *Haemophilus influenzae* VI-2 е биотип VI од класификацијата на биотипови според Килијан.¹⁸

Очекуваните реакции беа изразени со девет вредности:					
Вредност	Значење	Вредност	Значење	Вредност	Значење
1	Поз. реакција многу ретко	25	Негативна реакција кај повеќето	90	Нег. реакција необично
5	Нег. реакција ретко	50	Поз. или нег. реакција	95	Негативна реакција ретко
10	Поз. реакција непознато	75	Позитивна реакција кај повеќето	99	Негативна реакција многу ретко

КОНТРОЛА НА КВАЛИТЕТ

Чистотијата на културата треба да се провери со изведувањето поткултури од суспензијата на инокулот во соодветни медиуми на агар. Резултатите од тестирањето нема да бидат важечки ако се открие мешана култура. Прифатливоста на средствата за идентификација може да се провери со тестирање на следниве соеви: (Табела 4.)

Табела 4

Дијаграм за контрола на квалитет

	<i>N. lactamica</i> ATCC 49142	<i>H. influenzae</i> ATCC 49144	<i>H. paraphrophilus</i> ATCC 49146	<i>B. catarrhalis</i> ATCC 49143
IDX	-	+	+	-
NO ₃	-	+	+	V
NO ₂ ¹	V	V	-	V
GLU	+	+	+	-
SUC	-	-	+	-
MAL	+	-	+	-
FRU	-	V	+	-
LAC	+	-	+	-
GAL	+	-	+	-
URE	-	+	-	-
ORN	-	+	-	-
IND	-	+	-	-
PRO	+	V	-	V
NGL	-	-	+	-
ZAR ²	-	-	-	-
AGL ³	-	-	V	-
STA ³	-	-	-	-
BL	-	+	-	-

1. Позитивен резултат може да се добие со *Neisseria mucosa* ATCC 49233.

2. Позитивен резултат може да се добие со *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 49130.

3. Позитивен резултат може да се добие со *Gardnerella vaginalis* ATCC 49145.

ИЗЈАВА ЗА ГАРАНЦИЈА

Системот е опфатен и подлежи на одредбите на гаранцијата што е вклучена во вашиот договор за системот или за неговите реагенси. Купувачот е одговорен за рутинските постапки за превентивно одржување. Поправките што произлегуваат од неизвршувањето на овие постапки за одржување во наведените временски интервали се вршат според одлука на Beckman Coulter на трошок на купувачот.

Клуч за симболите

Клуч за симболите			
Симбол	Назив на симболот	Опис на стандардот	Стандард
②	Не употребувајте повторно	Укажува на медицински уред што е наменет за едно користење или за користење на еден пациент во текот на една постапка.	ISO 15223-1; 5.4.2
	Рок на употреба	Укажува на датумот по кој медицинскиот уред не треба да се користи.	ISO 15223-1; 5.1.4
LOT	Код на серија	Го означува бројот на серијата на производителот за да може да се идентификува серијата или пакетот.	ISO 15223-1; 5.1.5
REF	Каталошки број	Го означува каталошкиот број на производителот за да може да се идентификува медицинскиот уред.	ISO 15223-1, клаузула 5.1.6

Клуч за симболите			
Симбол	Назив на симболот	Опис на стандардот	Стандард
	Производител	Го означува производителот на медицинскиот уред, како што е дефинирано во директивите на ЕУ 90/385/ЕЕЗ, 93/42/ЕЕЗ и 98/79/ЕЗ.	ISO 15223-1, клаузула 5.1.1
	Датум на производство	Го означува датумот кога е произведен медицинскиот уред.	ISO 15223-1; 5.3.1
	Овластен претставник на Европската заедница	Го означува овластениот претставник во Европската заедница.	ISO 15223-1, клаузула 5.1.2
	Содржи доволно за <n> тестови	Укажува на вкупниот број тестови IVD што може да се извршат со IVD. (Обично вклучен во комплетот со реагенси).	ISO 15223-1; 5.5.5
	In Vitro дијагностички медицински уред	Укажува на медицински уред што е наменет да се користи како in vitro дијагностички медицински уред.	ISO 15223-1, клаузула 5.5.1
	Ограничување на температурата	Ги означува температурните граници на кои може безбедно да биде изложен медицинскиот уред.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Консултирајте го упатството за употреба	Укажува на потребата корисникот да го консултира упатството за употреба.	ISO 15223-1; 5.4.3
	СЕ-ознака	Европска ознака за регулаторна усогласеност	н/п
	Содржина	н/п	н/п
	Содржина (пакет)	Антимикробно средство (скратеница)	н/п
	Содржина (пакет)	Супстрат за идентификација (скратеница)	н/п
	Лист со податоци за безбедност	Означува лист со податоци за безбедност.	н/п
	Made in USA	н/п	н/п
	Само за користење за извоз	н/п	н/п
	Волумен на реконституцијата	н/п	н/п
	Кршливо, ракувајте внимателно	Укажува на медицински уред што може да биде скршен или оштетен ако со него не се ракува внимателно.	ISO 15223-1; 5.3.1

Клуч за симболите			
Симбол	Назив на симболот	Опис на стандардот	Стандард
	Оваа страна горе	Укажува на точна исправена положба	ISO 7000: 0623
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied (ISO 15223-1: Медицински уреди - Симболи што се користат за обележување на медицински уреди, обележување на пакувања и информации што треба да се достават). Дел 1: Општи барања.			

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на производите и услугите на Beckman Coulter споменати овде се трговски марки или регистрирани трговски марки на Beckman Coulter, Inc. во САД и други земји.

REFERENCES

1. Baron, E.S., and A. K. Saz. 1976. Effect of types of media on the production of acid from glucose by so-called glucose-negative strains of *N. gonorrhoeae*. *J. Clin. Microbiol.* 3:330.
2. Brooker, D. C., M. S. Lund, and D. J. Blazevic. 1973. Rapid test for lysine decarboxylase activity in Enterobacteriaceae. *Appl. Microbiol.* 26:622.
3. D'Amato, R.F., L.A. Eriquez, K.M. Tomfohrde, and E. Singerman. 1978. Rapid Identification of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis* by using enzymatic profiles. *J. Clin. Microbiol.* 7:77.
4. Davis, J.A., J.R. Mitzel, and W.E. Beam, Jr. 1971. Carbohydrate fermentation patterns of *Neisseria meningitidis* determined by a microtiter method. *Appl. Microbiol.* 21:1072.
5. Djurhuus, R. 1981. Ornithine decarboxylase (E.C.4.1.1.17) assay based upon the retention of putrescine by a strong cation-exchange paper. *Anal. Biochem.* 113:352.
6. Enriquez, L.A., and G.B. Knight. 1980. Aminopeptidases highly specific to glutamyl residues from *Neisseria meningitidis* and *Moraxella urethralis*. *J. Clin. Microbiol.* 12:667.
7. Fay, G.D. and A.L. Barry. 1972. Rapid ornithine decarboxylase test for the identification of Enterobacteriaceae. *Appl. Microbiol.* 23:710.
8. Kellogg, Jr., D.S., and E.M. Turner. 1973. Rapid fermentation confirmation of *Neisseria gonorrhoeae*. *Appl. Microbiol.* 25:550.
9. Lampe, A.S. 1981. Nonliquid reagent for detecting nitrate reduction. *J. Clin. Microbiol.* 14:452.
10. Plot, P., E. Van Dyck, P.A. Totten, and K.K. Holmes. 1982. Identification of *Gardnerella vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 15:19.
11. Qadri, S.M. Hussain, and N. Parker. 1981. Clinical evaluation of the rapid carbohydrate degradation microtube method for identification of *Neisseria* species. *J. Clin. Microbiol.* 14:318.
12. Tyagi, A.K., C.W. Tabor, and H. Tabor. 1981. Ornithine decarboxylase from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 256:12156.
13. Jorgensen, J.H., J.C. Lee, and G.A. Alexander. 1977. Rapid penicillinase paper strip test for the detection of beta-lactamase producing *Haemophilus influenzae* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 11:1087.
14. Park, C.H., J.S. Lopez, and C.B. Cook. 1978. Acidometric agar plate method for ampicillin susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 13:318.
15. Weissfeld, A.S., G.D. Sanner, J.R. Childress, J.D. Dyckman, T.W. Huber, and R.P. Williams. 1977. Feasibility of screening for penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* from primary culture plates by using a rapid microacidometric test. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 12:703.
16. Balows, A., W. J. Hausler, K. L. Herrmann, H. D. Isenberg, and H.J. Shadomy (eds.) 1991. *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
17. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 2006. Approved Standard M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
18. Oberhofer, T.R., and A. E. Bach. 1979. Biotypes of *Haemophilus* encountered in clinical laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 10:168.



Beckman Coulter Eurocenter SA
22, rue Juste-Olivier, Case Postale 1044,
CH-1260 Nyon 1, Switzerland.
Telephone: +41 (0)22 365 36 11

贝克曼库尔特公司，美国加利福尼亚州，
Brea市，S. Kraemer大街 250号，邮编：92821
www.beckmancoulter.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15º andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-00 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com



Beckman Coulter, Inc., 250 S. Kraemer Blvd., Brea, CA 92821 U.S.A.
www.beckmancoulter.com