



MicroScan

Gram Positive ID 3 Procedural Manual

REF B1017-221

TABLE OF CONTENTS

English	2
Français (FR)	10
Deutsch (DE)	18
Italiano (IT)	26
Español (ES)	34
Português Portugal (PT-PT)	42
Ελληνικά (EL)	50
中文 (ZH-CN)	59
Magyar (HU)	66
Polski (PL)	74
한국어 (KO)	82
Türkçe (TR)	89
Русский (RU)	97
Hrvatski (HR)	106
Србија (SR)	114
Nederlands (NL)	122
Tiếng Việt (VI)	130
Македонски (MK)	138
REFERENCES	147

MicroScan

Gram Positive ID 3 Procedural Manual

REF B1017-221

INTENDED USE

For Use With MicroScan Dried Gram Positive ID Type 3 panels. MicroScan Dried Gram Positive ID Type 3 panels are designed for use in determining identification to the species level of rapidly growing aerobic and facultative gram-positive cocci, some fastidious aerobic gram-positive cocci and *Listeria monocytogenes*. Refer to Limitations of Procedure Section for use with fastidious streptococci.

SUMMARY AND PRINCIPLE

Modified conventional and chromogenic tests are used for the identification of *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*, and *Listeria monocytogenes*. Identification is based on detection of pH changes, substrate utilization, and growth in the presence of antimicrobial agents after 16–44 hours incubation at 35°C.^{1,2,3,4,5,6,7}

WARNING AND PRECAUTIONS

1. For *in vitro* diagnostic use only.
2. Observe aseptic techniques and established precautions against microbiological hazards throughout all procedures, with special awareness that the inoculated panels contain potentially pathogenic organisms.
3. This material contains infectious agents and should be discarded as appropriate for biohazardous waste.
4. Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient's medical history, clinical presentation and other findings.
5. Growth and OPT well contain 0.005% hemin bovine crystalline.

STORAGE

Dried Gram Positive panels must be stored at 2–25°C.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

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

EVIDENCE OF DETERIORATION

Prolonged exposure to storage conditions other than those recommended may result in hydrolysis of identification substrates. Do not use beyond the expiration date. Contact your Beckman Coulter Representative or Distributor for further assistance.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Appropriate specimens should be collected, transported, and placed on primary isolation media according to procedures recommended in the *Manual of Clinical Microbiology*.⁸

MATERIALS PROVIDED

Pos ID Type 3 (B1017-221)

Procedural Manual

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

0.5 McFarland Turbidity Standard

0.5% N, N-Dimethyl- α -naphthylamine, 30 mL (B1010-45A) or 250 mL (B1015-45)

0.8% Sulfanilic Acid, 30 mL (B1010-44A) or 250 mL (B1015-44)

100 μ L pipettor with disposable sterile tips

5% Alpha Naphthol, 30 mL (B1010-42A)

40% Potassium Hydroxide, 30 mL (B1010-43A) or 250 mL (B1015-43)

Cover Trays (B1010-56B)

General Laboratory Equipment

Inoculator-D Set (B1013-4)

Inoculum Water, 3 mL (B1015-2)

Inoculum Water with PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Microdilution Viewer

*PLURONIC® surfactants, a registered trademark of BASF Corporation, Parsippany, NJ USA

Mineral Oil, 60 mL (B1010-40)

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

Prompt® Inoculation System (B1026-10D)**

Quality Control Organisms (Refer to QC section of this manual)

Peptidase Reagent, 30 mL (B1012-30B) or 250 mL (B1015-30)

Reagent Dropper Kit (B1013-12A)

RENOK Rehydrator/Inoculator (B1018-14) or equivalent

Turbidity Meter

Vortex

Barcode Label Paper (B1018-129)

WalkAway Tray Lids (B1018-18)

PROCEDURE

Panel Preparation

1. Remove the panels to be used from storage. **Panels should not be used if any of the following conditions exist.**
 - A. Desiccant is not present or is broken.
 - B. Panel wells are discolored (e.g., PHO).
 - C. Integrity of the packaging is compromised (unsealed, punctured, or torn).
2. Cut open the pouch and remove the panel. If stored in the refrigerator, remove the panel immediately from the foil pouch. Allow panels to equilibrate to room temperature prior to rehydration. Panels may be stacked with a clean Cover Tray on top. All opened panels should be used within the same day or discarded.

Pos ID Type 3

Identification Substrates	Abbr.	Identification Substrates	Abbr.
Crystal Violet	CV	Urea	URE
Micrococcus Screen	MS	Mannitol	MAN
Nitrate	NIT	Lactose	LAC
Novobiocin	NOV	Trehalose	TRE
PNP-β-D-Glucuronide	PGR	Mannose	MNS
Indoxyl Phosphatase	IDX	Sodium Chloride 6.5%	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbitol	SOR
Optochin	OPT	Arabinose	ARA
Phosphatase	PHO	Ribose	RBS
40% Bile Esculin	BE	Inulin	INU
L-Pyrrolidonyl-β-naphthylamide	PYR	Raffinose	RAF
Arginine	ARG	Bacitracin	BAC
PNP-β-D-Galactopyranoside	PGT	Pyruvate	PRV

Inoculum Preparation

CLSI recommends periodically checking your inoculum densities by performing colony counts. Refer to CLSI document M7-A7 section 10.3.1.3 for colony count recommendations. The expected results for *E. coli* ATCC 25922 should closely approximate 5×10^5 CFU/mL for the final test concentrations.⁹ The user should pay careful attention to inoculum preparation, especially with manual methods that are technique dependent such as the Prompt System or inoculum prepared without the aid of a photometric device.

Note: Log and Stationary phase techniques are not supported with MicroScan products.

1. Turbidity Standard Technique - Primary Inoculum Method

The turbidity standard technique is recommended for direct inoculation of all aerobic gram positive cocci.

- A. Using a sterile applicator stick, loop or swab, touch the surface of 4-5 large or 5-10 small morphologically similar, well-isolated colonies from an 18-24 hour non-inhibitory agar plate.
- B. Emulsify in 3 mL of Inoculum Water (autoclaved deionized water). The final turbidity should be equivalent to that of a 0.5 McFarland turbidity standard. An equivalent turbidity can be achieved by using a MicroScan Turbidity Meter with a range of 0.08 ± 0.02 . Cap tightly.
- C. Vortex the suspension for 2-3 seconds.

**3M, St. Paul, MN USA

- D. Pipet 0.1 mL (100 µL) of the standardized suspension into 25 mL of Inoculum Water with PLURONIC. Cap tightly. Invert 8-10 times to mix.

2. Prompt System

The Prompt System may be used for the more rapidly growing gram-positive cocci. Refer to the Prompt Inoculation procedural manual for the proper use of the Prompt System.

Note: Use with caution. Under-inoculation may occur with organisms that do not meet the size requirement. Under-inoculation could cause incorrect identification test results.

Panel Rehydration/Inoculation

Rehydration and inoculation is performed using the RENOK system with inoculators-D (B1013-4). Refer to RENOK Operator's Manual for use. If an alternate system is used, rehydrate with 115 + 10 µL of Inoculum Water (PLURONIC). A final well concentration of $3\text{--}7 \times 10^5$ CFU/mL must be achieved.

To ensure viability and purity of the organism tested, a purity plate should be prepared by streaking the inoculum to an appropriate agar plate and incubating under the appropriate conditions. If two or more colony types are present on the purity plate, reisolate the colonies and retest.

Biochemical Overlays

1. Using a dropper bottle, overlay the ARG and URE wells with at least 3 drops of mineral oil. (These wells are underlined on the panel.)
2. The media in the wells must be completely covered with mineral oil, but the oil should not overflow the wells.

Note: WalkAway *SI* instruments and WalkAway *plus* (and WalkAway instruments upgraded with the automated oil overlay feature) automatically add oil to the appropriate wells.

Incubation

1. Panels can be incubated in a WalkAway System or incubated off-line using the following steps:
 - A. To ensure even thermal distribution during incubation, stack the panels in groups of 3-5.
 - B. Place a clean Cover Tray on top of each group of panels to prevent evaporation. Cover Trays may be reused. Do not decontaminate the Cover Trays with alcohol. They may be cleaned with soap and water. Rinse well and allow to air dry.
 - C. Incubate the panels for 16-20 hours at 35°C in a non-CO₂ incubator.

Reading the Panels

Panels can be read manually using the MicroScan Microdilution Viewer and results recorded on a Manual Panel Worksheet (see Materials Required but not Provided section of this procedure manual) or on MicroScan instrumentation (touchSCAN-SR, autoSCAN-4, and WalkAway systems). Refer to the appropriate operator's manual for reading panels with MicroScan instrumentation.

1. Following 16-20 hours incubation, remove the panels from the incubator.
2. Wipe off the bottom of the panel with a lint-free tissue to remove any condensation or debris that may be present.
3. Read the panels only if the control well is clear and the growth control well is turbid. Turbidity may take the form of a white haze throughout the well, a white button in the center of the well, or a fine granular growth throughout the well. Inadequate growth is defined as slight whiteness in the well or the broth is clear.
4. If results are read manually, record results on the appropriate worksheet.
5. Reading Identification Substrates
 - A. Read all identification substrates with a white background except CV, MS, NOV, OPT, NACL, and BAC, which should be read against a black (indirectly lighted) background.
 - B. IDX and PHO results are recorded after 16-20 hours incubation.
 - C. Panels with negative PGT and fewer than 3 positive carbohydrates should be reincubated for an additional 24 hours before making a final reading and identification.
 - D. Only panels which have 3 carbohydrates or the PGT reaction positive should have reagents added at 16-20 hours. At 40-44 hours, add reagents regardless of number of positive tests.
 - E. Prior to addition of reagents, record all positive reactions.
 - F. Add reagents as follows:
 - a. Add 1 drop 40% Potassium Hydroxide (KOH) and 1 drop of 5% Alpha-Naphthol to the VP well. Wait at least 20 minutes for VP reaction to develop prior to reading.
 - b. Add 1 drop each of 0.8% Sulfanilic Acid and 0.5% N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine to the NIT well. Wait at least 5 minutes for the NIT reaction to develop prior to reading.
 - c. Add 2 drops of Peptidase reagent to PYR well. Wait 2 minutes prior to reading.

G. Refer to RESULTS section for aid in biochemical interpretation.

RESULTS

1. Biochemical interpretations

Well	Reagent	Positive	Negative
CV			
MS			
NOV			
OPT		Growth	No Growth
NACL			
BAC			
NIT	Add 1 drop of 0.8% Sulfanic Acid and 1 drop of 0.5% N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine. Wait 5 minutes for the reaction to develop.	Pink to Red	Clear (colorless) May be very pale pink
PGR	Any shade of yellow should be interpreted as positive.	Yellow	Clear (colorless)
PHO	Use the NOV well as a negative control.		
PGT			
IDX		Blue to Gray/Precipitate	Clear (colorless) or white precipitate
VP	Add 1 drop of 40% KOH and 1 drop of 5% Alpha Naphthol. Wait at least 20 minutes for reaction to develop.	Pink to Red	Clear (colorless) to Brown, May be cloudy or very pale pink
BE		Dark Brown to Black	Clear (colorless) to Light Brown
PYR	Add 2 drops Peptidase reagent. Wait 2 minutes for the reaction to develop.	Red/Orange to Red	Yellow to Orange/Red
ARG		Pink/Orange to Pink	Yellow to Orange
URE		Pink	Yellow to Orange
RAF			
LAC			
TRE			
MNS			
SOR	Any hint of orange should be considered negative.	Yellow	Orange to Red
ARA			
RBS			
INU			
MAN			
PRV			
HEM		Beta	Alpha or Gamma
LOC	For autoSCAN-4 and WalkAway Systems panel recognition only.		

Dried Gram Pos Identification - Streamlined ID QC ¹					
QC Organism	ATCC Number	Key Indicator Substrate	Expected Result	Out-of-Specification Result	Labile Substrate
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Yes

1. Key indicators for Quality Control are provided for streamlined QC per CLSI document M50-A.¹⁰ Before implementing the streamlined QC program, refer to the M50-A document for details and check with applicable regulatory agencies and inspecting groups to confirm acceptance.

2. Principles of Identification Reactions

Crystal Violet (CV): Growth in the presence of low concentrations of crystal violet is used to distinguish streptococci (positive) from staphylococci (mostly negative).

Micrococcus Screen (MS): Growth in the presence of low concentrations of bacitracin (0.05 µg/mL) is used to distinguish staphylococci (positive) from micrococci (negative).

Nitrate (NIT): Reduction of nitrate to nitrite is detected by the formation of a red color following the addition of 0.8% Sulfanilic Acid and 0.5% N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine. Streptococci are nitrate negative while most staphylococci are nitrate positive.

Novobiocin (NOV): Resistance to low concentrations (1.6 µg/mL) of Novobiocin is characteristic of some staphylococci.

Glycosidases (PGR, PGT): The ability of an organism to produce a specific glycosidase enzyme is detected by the splitting of the p-nitrophenyl-carbohydrate complex releasing p-nitrophenol which is yellow in color.

Indoxyl Phosphatase (IDX): Hydrolysis of indoxyl phosphate by the enzyme indoxyl phosphatase results in an insoluble blue compound. Most coagulase and DNase positive staphylococci are IDX positive.

Voges-Proskauer (VP): Acetylmethylcarbinol, produced from glucose, reacts with 40% Potassium Hydroxide and 5% Alpha Naphthol to form a red color.

Optochin (OPT): Susceptibility to optochin is characteristic of *Streptococcus pneumoniae*. Other streptococci and staphylococci are not inhibited by optochin.

Phosphatase (PHO): Alkaline phosphatase splits p-nitrophenyl phosphate into inorganic phosphate and p-nitrophenol which is yellow in color.

Bile Esculin (BE): Organisms capable of growing in 40% bile and hydrolyzing esculin are detected by the production of a black precipitate resulting from the reaction of the hydrolytic product esculetin with ferric citrate. Group D streptococci, some viridans streptococci, and some staphylococci are BE positive.

Pyrrolidonyl- β -naphthylamide (PYR): Organisms which produce pyrrolidonase split L-pyrrolidonyl- β -naphthylamide into L-pyrrolidone and β -naphthylamine which combines with Peptidase reagent (p-dimethyl-aminocinnamaldehyde) to produce a red color.

Arginine (ARG): Dehydrolization of arginine results in alkalinization of the medium which is detected by a yellow to red color change in the phenol red indicator.

Urea (URE): The enzyme urease splits urea forming ammonia. The resulting increase in pH is detected by the phenol red indicator.

Carbohydrates (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): The fermentation of a specific carbohydrate results in acid formation. The consequent pH drop is detected by the phenol red indicator turning yellow.

6.5% NaCl (NACL): Tolerance to 6.5% sodium chloride is demonstrated by growth. Salt tolerance is used to differentiate enterococci from non-enterococci.

Bacitracin (BAC): Susceptibility to low concentrations of bacitracin is indicated by lack of growth and is characteristic of *Streptococcus pyogenes*.

Pyruvate (PRV): Utilization of pyruvate results in acid formation. The resultant drop in pH is detected by the phenol red indicator turning yellow.

Hemolysis (HEM): Streptolysin S and O which are produced by streptococci cause complete or partial lysis of the red blood cells in agar containing sheep blood.

3. Organism Identification

The MicroScan Dried Gram Positive Biotype Lookup Program is used for the identification of unknown test organisms. This program has been generated from MicroScan's own database. The Gram Positive Lookup Program provides for computer analysis of 27 tests for *Streptococcaceae* and 18 tests for *Micrococcaceae*. These tests are translated into a 9 or 6 digit biotype number respectively. Refer to the program for the method of recording results. The program lists the organism identification and the relative probabilities. All possibilities are listed in the order of the highest probability up to a cumulative total of 99.9%. The program is divided into 2 sections: *Micrococcaceae* and *Streptococcaceae*.

Should a biotype occur that results in a "Very Rare Biotype", consult the LabPro software (Utilities>System>Biotype Lookup) or the Biotype Lookup Service on the Beckman Coulter website, or consult your local distributor.

LIMITATION OF THE PROCEDURE

1. The CLSI Document M7-A7 recommends supplementation of Mueller Hinton Broth with Lysed Horse Blood when testing fastidious streptococci. The MicroScan Dried Gram Positive Panel Procedure differs from this recommendation. If there is inadequate growth in the growth well, the biochemical results are not valid and an alternate method should be used.
2. Anaerobic Bacteria - The Pos ID panel is not suitable for testing anaerobic gram positive cocci.
3. Additional tests may be necessary to determine the final identification when a low probability (<85%) identification is obtained (refer to the MicroScan Biotype Lookup Program for Aerobic Gram Positive Organisms or the Microbiology Manual).
4. The interpretation of test results require trained clinical personnel who should use judgment, knowledge and additional confirmatory tests where required prior to accepting the identification of an organism.
5. Biotype numbers should not be used for phenotype identification of strains isolated from various specimens from the same patient.
6. Vancomycin-resistant *E. faecium* may be distinguished from *E. gallinarum* by checking motility and pigment production. See the additional test table of the Microbiology Manual for more information.

EXPECTED VALUES

For expected values with biochemical substrates, please refer to the Percent Chart contained in the Microbiology Manual.

QUALITY CONTROL

The acceptability of the identification media should be checked by testing organisms with known reactions. The results for the recommended American Type Culture Collection (ATCC) control organisms are listed in the following table.*

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

Dried Gram Pos Identification Substrate Quality Control Table

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	N/A	N/A
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	N/A
NOV ²	-	N/A	-	N/A
PGR ²	-	-	-	N/A
IDX	+	N/A	N/A	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	N/A
PHO	+	N/A	-	N/A
BE	-	+	+	N/A
PYR	N/A	+	-	N/A
ARG	+	+	-	N/A
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	N/A
MAN	+	+	+	-
LAC	+	N/A	+	-
TRE	N/A	+	+	-
MNS	N/A	+	+	-
NACL	N/A	+	-	N/A
SOR	N/A	+	-	N/A
ARA ²	N/A	-	-	N/A
RBS	N/A	+	-	N/A
INU	N/A	-	+	N/A
RAF	N/A	-	+	N/A
BAC ²	N/A	+	+	N/A
PRV	N/A	+	-	N/A

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Refer to Additional Test Table for additional positive or negative reactions as needed for each biochemical.

3. May require 24 hour incubation.

N/A = Not Applicable

NOTE: Quality Control organisms are selected to provide positive/negative reactions for all identification substrates. As a result of this, the organism identifications may vary from that stated in the QC chart. The acceptability of product performance should be determined by comparison of test results, not identification.

Additional Test Table

Organism	Substrate	Expected Result
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Identification

Performance claims for the MicroScan Dried Gram Positive Type 3 panel were established using the Dried Gram Positive Type 2 Panel in a multicenter study. Clinical isolates and stock strains were tested on the Dried Pos ID Type 3 panel and conventional tube methodologies to represent the type of bacterial population expected in a routine clinical laboratory. Refer to the MicroScan System Microbiology Information Manual (Section 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria) for a complete list of the organisms included in the database.

The Dried Pos ID Type 3 panel *Micrococcaceae* results were in agreement to both the species and the group level with 97.5% (157/161) of the isolates. Only 5.6% (9/161) of the isolates required additional tests to confirm a low probability species or group level identification.

The Dried Pos ID Type 3 panel *Streptococcaceae* results were in agreement to the species level with 91.3% (230/252) and they were in agreement to the group level with 92.1% (232/252). Only 14.3% (36/252) of the isolates required additional tests to confirm a low probability species identification and 4.4% (11/252) to confirm a low probability group level identification.

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
	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

Symbols Key			
Symbol	Symbol Title	Description of Standard	Standard
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Manuel d'utilisation des plaques pour Grams Positifs ID de type 3)

REF B1017-221

UTILISATION

À utiliser avec les plaques MicroScan conventionnelles Gram Positif ID de type 3. Les plaques MicroScan conventionnelles Gram Positif ID de type 3 sont conçues pour déterminer l'identification au niveau de l'espèce des coques à croissance rapide aérobies et anaérobies facultatives à Gram positif, ainsi que de *Listeria monocytogenes*. Se référer à la section Limites de la procédure pour une utilisation avec les streptocoques exigeants.

RÉSUMÉ ET PRINCIPE

Des tests conventionnels modifiés et chromogéniques sont utilisés pour l'identification de *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* et de *Listeria monocytogenes*. L'identification est fondée sur la détection de modifications du pH, sur l'utilisation du substrat et sur la croissance en présence d'agents antimicrobiens après 16 à 44 heures d'incubation à 35 °C^{1,2,3,4,5,6,7}.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Pour une utilisation en Diagnostic *in vitro* uniquement.
2. 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 germes potentiellement pathogènes.
3. Ce matériau contient des agents infectieux et doit être éliminé conformément aux procédures applicables aux déchets présentant un risque biologique.
4. Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en tenant compte des antécédents médicaux du patient, des signes cliniques et d'autres constatations.
5. Les puits de croissance et OPT contiennent 0,005 % d'hémine cristalline d'origine bovine.

CONSERVATION

Les plaques conventionnelles pour Gram positifs doivent être stockées à une température de 2–25 °C.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

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

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

L'hydrolyse de substrats d'identification peut résulter d'une exposition prolongée à des conditions de stockage différentes des conditions recommandées. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption. Contacter le représentant ou distributeur Beckman Coulter pour obtenir de l'aide.

RECUEIL ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Les échantillons appropriés doivent être prélevés, transportés et mis en culture sur un milieu d'isolement primaire, en suivant les procédures recommandées dans le document « *Manual of Clinical Microbiology* » (Manuel de microbiologie clinique)⁸.

MATÉRIEL FOURNI

Pos ID de type 3 (B1017-221)

Manuel d'utilisation

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Standard de turbidité McFarland 0,5

N,N-diméthyl-alpha-naphthylamine 0,5 %, 30 mL (B1010-45A) ou 250 mL (B1015-45)

Acide sulfanilique 0,8 %, 30 mL (B1010-44A) ou 250 mL (B1015-44)

Pipette de 100 µL avec embouts stériles jetables

Alpha-naphtol 5 %, 30 mL (B1010-42A)

Hydroxyde de potassium 40 %, 30 mL (B1010-43A) ou 250 mL (B1015-43)

Couvercles (B1010-56B)

Matériel de laboratoire courant

Ensemble d'inoculateurs-D (B1013-4)

Eau pour inoculum, 3 mL (B1015-2)

Eau pour inoculum avec PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Visionneuse pour plaques en microdilution

Huile minérale, 60 mL (B1010-40)

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

Système d'inoculation Prompt® (B1026-10D)**

Souches de contrôle qualité (consulter la section CQ de ce manuel)

Réactif de peptidase, 30 mL (B1012-30B) ou 250 mL (B1015-30)

Kit compte-gouttes pour réactif (B1013-12A)

Système réhydratateur/inoculateur RENOK (B1018-14) ou équivalent

Turbidimètre

Vortex

Papier pour étiquettes à code-barres (B1018-129)

Couvercles de plateaux WalkAway (B1018-18)

PROCÉDURE

Préparation des plaques

- Retirer les plaques à utiliser de la zone de stockage. **Les plaques ne doivent pas être utilisées si l'une des conditions suivantes est remplie.**
 - Produit déshydratant absent ou détérioré.
 - Puits des plaques décolorés (par exemple, PHO).
 - L'intégrité de l'emballage est compromise (emballage ouvert, perforé ou déchiré).
- Ouvrir le sachet et retirer la plaque. En cas de stockage dans un réfrigérateur, retirer la plaque immédiatement du sachet en aluminium. Laisser les plaques s'équilibrer à température ambiante avant la réhydratation. Les plaques peuvent être empilées en plaçant un couvercle propre au-dessus. Toutes les plaques ouvertes doivent être utilisées dans la même journée ou jetées.

Pos ID de type 3

Substrats pour l'identification	Abr.	Substrats pour l'identification	Abr.
Violet de méthyle	CV	Urée	URE
Test des microcoques	MS	Mannitol	MAN
Nitrate	NIT	Lactose	LAC
Novobiocine	NOV	Tréhalose	TRE
PNP-β-D-Glucuronide	PGR	Mannose	MNS
Indoxyl Phosphatase	IDX	Chlorure de sodium 6,5 %	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbitol	SOR
Optochine	OPT	Arabinose	ARA
Phosphatase	PHO	Ribose	RBS
Bile esculine 40 %	BE	Inuline	INU
L-Pyrrolidonyl-β-naphthylamide	PYR	Raffinose	RAF
Arginine	ARG	Bacitracine	BAC
PNP-β-D-Galactopyranoside	PGT	Pyruvate	PRV

Préparation de l'inoculum

Le CLSI recommande le contrôle périodique des densités d'inoculum en effectuant des numérations de colonies. Se référer au document CLSI M7-A7 section 10.3.1.3 pour les recommandations sur le comptage des colonies. Les résultats attendus pour *E. coli* ATCC 25922 sont à peu près équivalents à 5×10^5 CFU/mL pour les concentrations finales testées.⁹ L'utilisateur doit prêter une attention particulière à la préparation de l'inoculum, en particulier avec les méthodes manuelles qui dépendent de la technique utilisée, par exemple, le système Prompt ou la préparation d'un inoculum sans l'aide d'un dispositif photométrique.

Remarque : les techniques en phase logarithmique et stationnaire ne sont pas prises en charge par les produits MicroScan.

1. Technique turbidimétrique standard — principale méthode d'inoculum

La technique du standard de turbidité est recommandée pour l'inoculation directe de tous les cocci aérobies à Gram positif.

*Tensioactifs PLURONIC®, marque déposée de BASF Corporation, Parsippany, NJ États-Unis

**3M, St. Paul, MN USA

- A. À l'aide d'un applicateur stérile, d'une anse ou d'un écouvillon, prélever la surface de 4 à 5 grandes colonies ou de 5 à 10 petites colonies bien isolées et de morphologie similaire issues d'une boîte de gélose non inhibitrice de 18 à 24 heures.
- B. Mettre en suspension dans 3 mL d'eau pour inoculum (eau stérilisée et désionisée). La turbidité finale doit être équivalente à celle d'un standard de turbidité de 0,5 McFarland. Une turbidité équivalente peut être obtenue en utilisant le turbidimètre MicroScan avec une valeur de $0,08 \pm 0,02$. Bien fermer le bouchon.
- C. Agiter la suspension au vortex pendant 2–3 secondes.
- D. Pipeter 0,1 mL (100 µL) de suspension standardisée dans 25 mL d'eau d'inoculum avec PLURONIC. Bien fermer le bouchon. Retourner 8 à 10 fois pour mélanger.

2. Système Prompt

Le système Prompt peut être utilisé pour les coques Gram positif à croissance plus rapide. Consulter le Prompt Inoculation Procedural Manual (Manuel d'utilisation de l'inoculation Prompt) afin de connaître les recommandations d'utilisation du système Prompt.

Remarque : à utiliser avec précaution. Possibilité de sous-inoculation avec des organismes ne remplissant pas les critères de taille. Une sous-inoculation peut entraîner des résultats de tests d'identification incorrects.

Réhydratation/inoculation des plaques

La réhydratation et l'inoculation se font à l'aide du système RENOK avec des Inoculators-D (B1013-4). Consulter le RENOK Operator's Manual (Manuel de l'opérateur RENOK). Si un système alternatif est utilisé, réhydrater avec $115 + 10 \mu\text{L}$ d'eau pour inoculum (PLURONIC). Une concentration finale dans les puits de $3-7 \times 10^5$ UFC/mL doit être atteinte.

Pour garantir la viabilité et la pureté de l'organisme testé, une boîte témoin doit être préparée en ensemençant l'inoculum par stries sur une boîte de gélose adaptée et en l'incubant dans des conditions appropriées. Si deux types de colonies ou plus sont présents sur la boîte témoin, isoler de nouveau les colonies et procéder à un nouveau test.

Tests biochimiques recouverts

1. À l'aide d'un compte-gouttes, recouvrir les puits ARG et URE avec au minimum 3 gouttes d'huile minérale. (Ces puits sont soulignés sur la plaque.)
2. Les milieux dans les puits doivent être complètement couverts d'huile minérale, mais l'huile ne doit pas déborder des puits.

Remarque : les instruments WalkAway *SI* et WalkAway *plus* (et les instruments WalkAway mis à niveau avec la fonction ajout d'huile automatique) ajoutent automatiquement l'huile dans les puits correspondants.

Incubation

1. Les plaques peuvent être incubées dans un système WalkAway ou incubées hors ligne en procédant comme suit :
 - A. Pour assurer une répartition thermique homogène durant l'incubation, empiler les plaques par groupes de 3 à 5.
 - B. Placer un couvercle propre sur chaque pile de plaques pour éviter toute évaporation. Les couvercles peuvent être réutilisés. Ne pas décontaminer les couvercles à l'alcool. Ils peuvent être nettoyés à l'eau et au savon. Bien rincer et laisser sécher à l'air libre.
 - C. Incuber les plaques pendant 16–20 heures à 35 °C dans une étuve pas à CO₂.

Lecture des plaques

Les plaques peuvent être lues manuellement à l'aide de l'afficheur de microdilution MicroScan et les résultats enregistrés sur une « Manual Panel Worksheet » (Fiche pour plaque manuelle) (voir la section « Matériel requis mais non fourni » de ce manuel d'utilisation) ou sur un instrument MicroScan (systèmes touchSCAN-SR, autoSCAN-4 et WalkAway). Consulter le manuel d'utilisation correspondant pour la lecture des plaques avec les instruments MicroScan.

1. Après 16 à 20 heures d'incubation, retirer les plaques de l'incubateur.
2. Essuyer le dessous de la plaque avec un morceau d'essuie-tout non pelucheux pour enlever la condensation ou les éventuels débris.
3. Lire les plaques uniquement si le puits de contrôle est clair et si le puits de contrôle de la croissance est trouble. Le trouble peut prendre la forme d'un voile blanc dans tout le puits, d'un bouton blanc au centre du puits ou d'une croissance en grains fins dans tout le puits. Une croissance insuffisante se traduit par une légère blancheur dans le puits ou par un bouillon transparent.
4. Si les résultats sont lus manuellement, les noter sur la feuille de travail correspondante.
5. Lecture des substrats d'identification
 - A. Lire tous les substrats d'identification sur un fond blanc sauf CV, MS, NOV, OPT, NACL et BAC, qui doivent être lus sur un fond noir (éclairé de façon indirecte).
 - B. Les résultats IDX et PHO sont lus après 16–20 heures d'incubation.

- C. Les plaques avec un test PGT négatifs et moins de 3 glucides positifs doivent être réincubées durant 24 heures supplémentaires avant de faire une lecture finale et l'identification.
- D. Seules les plaques qui ont 3 glucides ou une réaction PGT positive peuvent recevoir les réactifs complémentaires à 16–20 heures. À 40–44 heures, l'ajout de réactifs se fait sans considération du nombre de tests positifs.
- E. Avant l'ajout de réactifs, noter toutes les réactions positives.
- F. Ajouter les réactifs comme expliqué ci-dessous :
 - a. Ajouter 1 goutte d'hydroxyde de potassium 40 % (KOH) et 1 goutte d'alpha-naphtol 5 % dans le puits VP. Attendre au moins 20 minutes que la réaction VP se développe avant la lecture.
 - b. Ajouter 1 goutte d'acide sulfanilique 0,8 % et de N,N-diméthyl-alpha-naphthylamine 0,5 % dans le puits NIT. Attendre au moins 5 minutes que la réaction NIT se développe avant la lecture.
 - c. Ajouter 2 gouttes de réactif peptidase dans le puits PYR. Attendre au moins 2 minutes avant la lecture.
- G. Se référer à la section RÉSULTATS pour avoir une aide sur l'interprétation biochimique.

RÉSULTATS

1. Interprétations biochimiques

Puits	Réactif	Positif	Négatif
CV MS NOV OPT NACL BAC		Croissance	Aucune croissance
NIT	Ajouter 1 goutte d'acide sulfanilique 0,8 %, puis 1 goutte de N,N-diméthyl-alpha-naphthylamine 0,5 %. Patienter 5 minutes pour que la réaction se développe.	Rose à rouge	Transparent (incolore), peut être rose très pâle
PGR PHO PGT	Toute trace de jaune doit être interprétée comme un résultat positif. Utiliser le puits NOV comme contrôle négatif.	Jaune	Transparent (incolore)
IDX		Bleu à gris/Précipité	Transparent (incolore) ou précipité blanc
VP	Ajouter 1 goutte de KOH 40 % et 1 goutte d'alpha-naphtol 5 %. Patienter au moins 20 minutes que la réaction se développe.	Rose à rouge	Transparent (incolore) à brun, peut être trouble ou rose très pâle
BE		Brun foncé à noir	Transparent (incolore) à brun clair
PYR	Ajouter 2 gouttes de réactif peptidase. Patienter 2 minutes pour que la réaction se développe.	Rouge/orange à rouge	Jaune à orange/rouge
ARG		Rose/orange à rose	Jaune à orange
URE		Rose	Jaune à orange
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Toute trace d'orange doit être interprétée comme un résultat négatif.	Jaune	Orange à rouge
HEM		Bêta	Alpha ou Gamma
LOC	Uniquement pour l'identification des plaques des systèmes autoSCAN-4 et WalkAway.		

Identification plaque conventionnelle Gram positif — CQ ID simplifié ¹					
Organisme de CQ	Numéro ATCC	Substrat indicateur clé	Résultat attendu	Résultat hors spécifications	Substrat labile
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Oui

1. Les indicateurs clés de contrôle qualité sont donnés pour le CQ simplifié par le document CLSI M50-A.¹⁰ Avant de démarrer le programme de CQ simplifié, consulter le document CLSI M50-A pour plus de détails et vérifier avec les autorités réglementaires et les groupes d'inspection la possibilité de l'utiliser.

2. Principes des réactions d'identification

Cristal violet (CV) : Une croissance en présence de faibles concentrations de cristal violet sert à distinguer les streptocoques (positif) des staphylocoques (le plus souvent négatif).

Dépistage des microcoques (MS) : Une croissance en présence de faibles concentrations de bacitracine (0,05 µg/mL) sert à distinguer les staphylocoques (positif) des microcoques (négatif).

Nitrate (NIT) : la réduction de nitrate en nitrite se détecte par l'apparition d'une couleur rouge après l'ajout d'acide sulfanilique 0,8 % et de N,N-diméthylalphanaphthylamine 0,5 %. Les streptocoques sont nitrate négatifs tandis que la plupart des staphylocoques sont nitrate positifs.

Novobiocine (NOV) : la résistance à de faibles concentrations (1,6 µg/mL) de novobiocine est caractéristique de certains staphylocoques.

Glycosidases (PGR, PGT) : la capacité d'un germe à produire une enzyme glycosidase particulière se détecte par la division du complexe p-nitrophényle-carbohydrate qui libère du p-nitrophénol, dont la couleur est jaune.

Indoxyl phosphatase (IDX) : L'hydrolyse de l'indoxyl phosphate par l'enzyme indoxyl phosphatase donne un composé bleu insoluble. La plupart des staphylocoques à coagulase et à DNase positives sont IDX positifs.

Voges-Proskauer (VP) : l'acétylméthylcarbinol, produit à partir du glucose, réagit avec l'hydroxyde de potassium 40 % et l'alphanaphthol 5 % pour former une couleur rouge.

Optochine (OPT) : la sensibilité à l'optochine est caractéristique du *Streptococcus pneumoniae*. Les autres streptocoques et staphylocoques ne sont pas inhibés par l'optochine.

Phosphatase (PHO) : La phosphatase alcaline divise le phosphate de p-nitrophényle en phosphate inorganique et en p-nitrophénol, dont la couleur est jaune.

Bile esculine (BE) : les germes capables de croître dans la bile 40 % et hydrolysant l'esculine se détectent par la production d'un précipité noir résultant de la réaction du produit hydrolytique de l'esculine avec du citrate de fer. Les streptocoques du groupe D, certains streptocoques viridans et certains staphylocoques sont BE positifs.

Pyrrolidonyl-β-naphthylamide (PYR) : Les germes qui produisent du pyrrolidonase divisent le L-pyrrolidonyl-β-naphthylamide en L-pyrrolidone et β-naphthylamine, qui se combine avec le réactif peptidase (p-diméthyl-aminocinnamaldéhyde) pour produire une couleur rouge.

Arginine (ARG) : La déshydrolyse de l'arginine entraîne l'alcalinisation du milieu, qui se détecte par le passage de l'indicateur au rouge de phénol de la couleur jaune au rouge.

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

Glucides (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN) : La fermentation d'un glucide spécifique est mise en évidence par la formation d'acide. La chute de pH consécutive est détectée par le rouge de phénol qui passe au jaune.

NaCl (NACL) 6,5 % : La tolérance au chlorure de sodium 6,5 % est démontrée par la croissance. La tolérance au sel sert à différencier les entérocoques des non entérocoques.

Bacitracine (BAC) : La sensibilité à de faibles concentrations de bacitracine est indiquée par un déficit de croissance et est caractéristique du *Streptococcus pyogenes*.

Pyruvate (PRV) : L'utilisation de pyruvate est mise en évidence par la formation d'acide. La chute de pH consécutive est détectée par l'indicateur au rouge de phénol qui passe au jaune.

Hémolyse (HEM) : les streptolysines S et O, produites par les streptocoques, provoquent une lyse totale ou partielle des globules rouges dans la gélose de sang de mouton.

3. Identification de l'organisme

Le MicroScan Biotype Lookup Program pour les plaques conventionnelles à gram positif est utilisé pour identifier les organismes de test inconnus. Ce programme a été généré à partir de la base de données MicroScan. Le Lookup Program es biotypes pour les plaques conventionnelles à gram positif permet l'analyse par ordinateur de 27 tests d'identification des *Streptococcaceae* et 18 tests d'identification des *Micrococcaceae*. Ces tests sont respectivement traduits en un numéro de biotype à 9 ou 6 chiffres. Se reporter au programme pour connaître la méthode d'enregistrement des résultats. Le programme répertorie les organismes identifiés et les probabilités associées. Toutes les possibilités sont présentées, en ordre de probabilité décroissant, avec un total cumulé de 99,9 %. Le programme est divisé en 2 catégories : *Micrococcaceae* et *Streptococcaceae*.

Si un biotype apparaît comme « Very Rare Biotype » (Biotype très rare), consulter le logiciel LabPro (Utilities [Utilitaire]>System [Système]>Biotype Lookup [Recherche de biotype]), le Biotype Lookup Program sur le site Internet de Beckman Coulter ou le représentant ou distributeur local de Beckman Coulter.

LIMITATIONS DE LA MÉTHODE

1. Le document M7-A7 du CLSI recommande l'ajout d'un bouillon Mueller-Hinton contenant du sang de cheval lysé lors du test de streptocoques exigeants. La procédure liée aux plaques MicroScan conventionnelles pour Gram positifs diffère de cette recommandation. En cas de croissance insuffisante dans le puits de croissance, les résultats biochimiques ne sont pas valides et une autre méthode doit être utilisée.
2. Bactéries anaérobies : la plaque Pos ID n'est pas adaptée pour le test des coques Gram positif anaérobies.

- Des tests complémentaires peuvent être nécessaires pour déterminer l'identification finale quand une identification de faible probabilité (<85 %) est obtenue [consulter le MicroScan Biotype Lookup Program pour les germes aérobies à gram positif ou le document « Manuel de microbiologie » (Manuel de microbiologie)].
- 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.
- 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.
- Il est possible de distinguer l'*E. faecium* résistant à la vancomycine de l'*E. Gallinarum* en vérifiant la motilité et la production de pigment. Consulter le tableau de tests supplémentaires dans le « Microbiology Manual » (Manuel de microbiologie) pour plus d'informations.

VALEURS ATTENDUES

Pour les valeurs attendues avec les substrats biochimiques, se référer au tableau des pourcentages dans le « Microbiology Manual » (Manuel de microbiologie).

CONTRÔLE DE QUALITÉ

La validité des milieux d'identification doit être contrôlée en testant des organismes ayant des réactions connues. Les résultats pour les organismes de contrôle recommandés par l'American Type Culture Collection (ATCC) sont répertoriés dans le tableau suivant.*

Tableau de contrôle qualité des substrats d'identification des plaques conventionnelles pour Gram positifs

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	S.O.	S.O.
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	S.O.
NOV ²	-	S.O.	-	S.O.
PGR ²	-	-	-	S.O.
IDX	+	S.O.	S.O.	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	S.O.
PHO	+	S.O.	-	S.O.
BE	-	+	+	S.O.
PYR	S.O.	+	-	S.O.
ARG	+	+	-	S.O.
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	S.O.
MAN	+	+	+	-
LAC	+	S.O.	+	-
TRE	S.O.	+	+	-
MNS	S.O.	+	+	-
NACL	S.O.	+	-	S.O.
SOR	S.O.	+	-	S.O.
ARA ²	S.O.	-	-	S.O.
RBS	S.O.	+	-	S.O.
INU	S.O.	-	+	S.O.
RAF	S.O.	-	+	S.O.
BAC ²	S.O.	+	+	S.O.
PRV	S.O.	+	-	S.O.

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Se référer au tableau des tests complémentaires pour avoir des réactions complémentaires positives ou négatives selon besoin pour chaque test biochimique.

3. Peut nécessiter 24 heures d'incubation.

S.O. = Sans objet

REMARQUE : les organismes de contrôle qualité sont sélectionnés de façon à donner des réactions positives/négatives pour tous les substrats d'identification. En conséquence, les identifications peuvent varier par rapport aux informations décrites dans le tableau de CQ. La validation des performances du produit sera déterminée par la comparaison des résultats pour les tests et non par l'identification.

Tableau de test supplémentaire

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

Organism (Germe)	Substrat	Résultat attendu
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

PERFORMANCES DU DOSAGE

Identification

La performance des plaques conventionnelles MicroScan pour Gram positifs de type 3 a été déterminée en utilisant la plaque conventionnelle pour Gram positifs de type 2 dans une étude multicentrique. Des isolats cliniques et des souches en stock ont été testés sur la plaque conventionnelle Pos ID de type 3 et avec des méthodes par tube d'échantillon conventionnelles pour représenter le type de population bactérienne attendue dans un laboratoire clinique de routine. Consulter le MicroScan System Microbiology Information Manual (Section 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria) (Manuel d'informations relatives à la microbiologie du système MicroScan [section 4 — Plaques conventionnelles Pos : bactéries anaérobies à Gram positif]) pour obtenir la liste complète des organismes inclus dans la base de données.

Les résultats de la plaque conventionnelle Pos ID de type 3 pour les *Micrococcaceae* étaient concordants à la fois au niveau de l'espèce et du groupe pour 97,5 % des isolats (157/161). Seulement 5,6 % des isolats (9/161) ont nécessité des tests complémentaires pour confirmer les identifications ayant une faible probabilité au niveau de l'espèce ou au niveau du groupe.

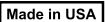
Les résultats de la plaque conventionnelle Pos ID de type 3 pour les *Streptococcaceae* étaient concordants au niveau de l'espèce à 91,3 % (230/252) et au niveau du groupe à 92,1 % (232/252). Seulement 14,3 % des isolats (36/252) ont nécessité des tests complémentaires pour confirmer les identifications avec une faible probabilité au niveau de l'espèce et 4,4 % des isolats (11/252) pour confirmer les identifications avec une faible probabilité au niveau du groupe.

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 seront 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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Grampositiv-ID-Typ-3 Verfahrensanleitung)

REF B1017-221

VERWENDUNGSZWECK

Zur Verwendung mit MicroScan Grampositiv-ID-Typ-3-Trockenpanels. MicroScan Grampositiv-ID-Typ-3-Trockenpanels wurden zur Identifikation auf Speziesebene von rasch proliferierenden aeroben und fakultativ grampositiven Kokken, einigen anspruchsvollen aeroben grampositiven Kokken sowie *Listeria monocytogenes* konzipiert. Bei Verwendung für anspruchsvolle Streptokokken siehe den Abschnitt „Grenzen des Verfahrens“.

ZUSAMMENFASSUNG UND PRINZIP

Für die Identifikation von *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* und *Listeria monocytogenes* werden modifizierte konventionelle und Chromogentests verwendet. Die Identifikation basiert auf dem Nachweis von pH-Veränderungen, Substratverbrauch und Wachstum in Anwesenheit von Antibiotika nach 16–44 Stunden Inkubation bei 35 °C.^{1,2,3,4,5,6,7}

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Nur zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum.
2. Während der gesamten Handhabung ist steril vorzugehen, und es sind Vorsichtsmaßnahmen gegen mikrobiologische Gefahren zu ergreifen. Besondere Vorsicht ist geboten, da beimpfte Panels potenziell pathogene Organismen enthalten.
3. Dieses Material enthält Krankheitserreger und muss ordnungsgemäß als biogefährlicher Abfall entsorgt werden.
4. Ergebnisse dieses Tests sollten stets in Verbindung mit der Vorgeschichte des Patienten, dem klinischen Bild und anderen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.
5. Das Wachstums- bzw. OPT-Feld enthält 0,005 % kristallines bovines Hämin.

LAGERUNG

Getrocknete Grampositiv-Panels müssen bei 2–25 °C gelagert werden.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf techdocs.beckmancoulter.com verfügbar.

VERFALLSANZEICHEN

Längere Lagerung unter Bedingungen, die von den empfohlenen abweichen, können die Hydrolyse der Identifikationssubstrate zur Folge haben. Nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden. Für weitere Unterstützung wenden Sie sich an Ihren Beckman Coulter-Vertreter oder -Händler.

GEWINNUNG UND AUFBEREITUNG DES PROBENMATERIALS

Bei der Gewinnung geeigneter Proben, deren Transport und der Übertragung auf primäre Isolationsmedien sollte so vorgegangen werden, wie im Dokument *Manual of Clinical Microbiology* (Handbuch der klinischen Mikrobiologie) empfohlen.⁸

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Grampositiv-ID-Typ-3 (B1017-221)

Verfahrensanleitung

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

McFarland-Trübungsstandard 0,5

N,N-Dimethyl- α -Naphthylaminlösung 0,5 %, 30 mL (B1010-45A) oder 250 mL (B1015-45)

Sulfanilsäure 0,8 %, 30 mL (B1010-44A) oder 250 mL (B1015-44)

100- μ L-Pipettierhilfe mit sterilen Einwegspitzen

α -Naphthol 5 %, 30 mL (B1010-42A)

Kaliumhydroxidlösung 40 %, 30 mL (B1010-43A) oder 250 mL (B1015-43)

Abdeckplatten (B1010-56B)

Allgemeine Laborausüstung

Inokulator-D-Set (B1013-4)

Inokulumwasser, 3 mL (B1015-2)

Inokulumwasser mit PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Mikroverdünnungsbetrachter

Mineralöl, 60 mL (B1010-40)

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

Prompt®-Inokulationssystem (B1026-10D)**

Organismen zur Qualitätskontrolle (siehe Abschnitt zur Qualitätskontrolle (QK) im vorliegenden Dokument)

Peptidase-Reagenz, 30 mL (B1012-30B) oder 250 mL (B1015-30)

Reagenztropferset (B1013-12A)

RENOK-Rehydrator/Inokulator (B1018-14) oder gleichwertig

Trübungsmessgerät

Verwirbelung

Barcode-Etikettenpapier (B1018-129)

WalkAway-Plattendeckel (B1018-18)

DURCHFÜHRUNG

Vorbereitung der Panels

1. Die zu verwendenden Panels aus dem Lager entnehmen. **Panels dürfen nicht verwendet werden, wenn Folgendes der Fall ist:**
 - A. Trockenmittel fehlt oder ist beschädigt.
 - B. Testfelder der Panels sind verfärbt (z. B. PHO).
 - C. Verpackung der Panels ist geöffnet, eingerissen oder beschädigt.
2. Den Beutel aufschneiden und das Panel entnehmen. Bei Lagerung im Kühlschrank das Panel sofort aus dem Folienbeutel nehmen. Die Panels vor der Rehydrierung Raumtemperatur annehmen lassen. Die Panels können aufeinandergestapelt werden. Ganz oben eine saubere Abdeckplatte aufsetzen. Geöffnete Panels, die nicht am selben Tag verwendet werden, müssen entsorgt werden.

Grampositiv-ID-Typ-3

Identifikationssubstrate	Abk.	Identifikationssubstrate	Abk.
Kristallviolett	CV	Harnstoff	URE
Micrococcus-Test	MS	Mannit	MAN
Nitrat	NIT	Lactose	LAC
Novobiocin	NOV	Trehalose	TRE
PNP-β-D-Glucuronid	PGR	Mannose	MNS
Indoxylphosphatase	IDX	Natriumchlorid 6,5 %	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbit	SOR
Optochin	OPT	Arabinose	ARA
Phosphatase	PHO	Ribose	RBS
40 % Galle-Aeskulin	BE	Inulin	INU
L-Pyrrolidonyl-β-Naphthylamid	PYR	Raffinose	RAF
Arginin	ARG	Bacitracin	BAC
PNP-β-D-Galactopyranosid	PGT	Pyruvat	PRV

Vorbereitung des Inokulums

Von der CLSI wird eine regelmäßige Überprüfung der Inokulumdichte durch Koloniezählung empfohlen. Für Empfehlungen zur Koloniezählung siehe CLSI-Dokument M7-A7, Abschnitt 10.3.1.3. Die erwarteten Ergebnisse für *E. coli* ATCC 25922 sollten bei der Endkonzentration des Tests bei ca. 5×10^5 KBE/mL liegen.⁹ Der Benutzer sollte besondere Sorgfalt bei der Inokulumvorbereitung walten lassen, insbesondere bei manuellen, technikabhängigen Methoden wie dem Prompt-System oder ohne Fotometer hergestelltem Inokulum.

Hinweis: Log- und Stationär-Phasen-Verfahren werden für MicroScan-Produkte nicht unterstützt.

1. Standardtrübungstechnik – primäre Inokulum-Methode

Die Standard-Trübungstechnik wird für die direkte Inokulation mit allen aeroben, grampositiven Kokken empfohlen.

*PLURONIC®-Tenside, eine eingetragene Marke der BASF Corporation, Parsippany, NJ, USA

**3M, St. Paul, MN USA

- A. Mit einem sterilen Applikatorstäbchen, einer sterilen Impföse oder einem sterilen Tupfer die Oberfläche von 4–5 größeren oder 5–10 kleineren morphologisch ähnlichen und klar voneinander isolierten Kolonien auf einer nicht hemmenden 18–24 Stunden inokulierten Agarplatte berühren.
- B. In 3 mL Inokulumwasser (autoklaviertem, entionisiertem Wasser) emulgieren. Die Endtrübung sollte einem McFarland-Trübungsstandard von 0,5 entsprechen. Eine gleichwertige Trübung kann unter Verwendung eines MicroScan-Trübungsmessgeräts mit einem Bereich von $0,08 \pm 0,02$ erzielt werden. Dicht verschließen.
- C. Suspension 2–3 Sekunden auf dem Vortexer mischen.
- D. 0,1 mL (100 μ L) der standardisierten Suspension in 25 mL Inokulumwasser mit PLURONIC pipettieren. Gefäß dicht verschließen. Durch 8- bis 10-maliges Drehen mischen.

2. Prompt-System

Das Prompt-System kann für schneller proliferierende grampositive Kokken verwendet werden. Siehe zur korrekten Verwendung des Prompt-Systems das Dokument „Prompt Inoculation Procedural Manual“ (Gebrauchsanleitung für das Prompt-Inokulationssystem).

Hinweis: Mit Vorsicht verwenden. Bei Organismen, die die Mindestgröße nicht erreichen, kann es zu einer Unterinokulation kommen. Diese Unterinokulation kann die Ergebnisse der Identifikationstests verfälschen.

Rehydrierung/Inokulation des Panels

Die Rehydrierung und Inokulation wird mit dem RENOK-System und Inoculators-D (B1013-4) durchgeführt. Dieses ist im „RENOK Operator's Manual for use“ (RENOK-Bedienerhandbuch) beschrieben. Wenn ein anderes System verwendet wird, mit 115 + 10 μ L Inokulumwasser (PLURONIC) rehydrieren. Im Testfeld sollte eine Endkonzentration von $3-7 \times 10^5$ KBE/mL erzielt werden.

Um die Lebensfähigkeit und die Reinheit des getesteten Organismus zu gewährleisten, muss eine Reinheitskontrolle angefertigt werden. Hierzu wird das Inokulum auf einer geeigneten Agarplatte ausgestrichen und unter entsprechenden Bedingungen inkubiert. Wenn auf dieser Platte zwei oder mehr Kolonietypen entstehen, die Kolonien erneut isolieren und nochmals testen.

Ölüberschichtung bestimmter biochemischer Substrate

1. Die ARG- und URE-Testfelder mit mindestens 3 Tropfen Mineralöl aus einer Tropferflasche überschichten. (Diese Testfelder sind auf dem Panel unterstrichen.)
2. Das Medium in den Testfeldern muss vollständig mit Mineralöl bedeckt sein, doch das Öl darf nicht überlaufen.

Hinweis: WalkAway SI- und WalkAway plus-Instrumente (sowie WalkAway-Instrumente, die mit der automatischen Ölüberschichtungsfunktion ausgerüstet sind) fügen den entsprechenden Testfeldern automatisch Öl hinzu.

Inkubation

1. Panels können in einem WalkAway-System oder offline bzw. systemextern mithilfe der folgenden Schritte inkubiert werden:
 - A. Um eine gleichmäßige Wärmeverteilung bei der Inkubation zu gewährleisten, die Panels in Gruppen von 3 bis 5 stapeln.
 - B. Auf jede Panelgruppe eine saubere Abdeckplatte legen, um eine Verdunstung zu vermeiden. Die Abdeckplatten können wiederverwendet werden. Abdeckplatten nicht mit Alkohol dekontaminieren. Sie können mit Seifenwasser gereinigt werden. Anschließend gut abspülen und an der Luft trocknen lassen.
 - C. Die Panels 16 bis 20 Stunden lang bei 35 °C in einem CO₂-freien Inkubator inkubieren.

Ablesen der Panels

Die Panels werden manuell mit dem MicroScan Mikroverdünnungs-Betrachter abgelesen, und die Ergebnisse werden in das „Manual Panel Worksheet“ (Panel-Arbeitsblatt) eingetragen (siehe in dieser Arbeitsanleitung unter „Erforderliche, aber nicht enthaltene Materialien“). Das Ablesen kann auch mit MicroScan-Instrumenten (Systeme touchSCAN-SR, autoSCAN-4 oder WalkAway) vorgenommen werden. Zum Ablesen der Panels mit MicroScan-Instrumenten ist das jeweilige Anwenderhandbuch zu konsultieren.

1. Nach einer Inkubation von 16 bis 20 Stunden die Panels aus dem Inkubator nehmen.
2. Eventuelle Kondensation oder Verschmutzungen am Boden des Panels mit einem fusselfreien Tuch entfernen.
3. Panels nur ablesen, wenn das Kontrolltestfeld klar ist und sich das Wachstums-Kontrolltestfeld getrübt hat. Eine Trübung kann als weißer Schleier im gesamten Feld, als weißer Punkt in der Mitte des Felds oder als feinkörniges Wachstum im gesamten Feld auftreten. Ungenügendes Wachstum ist als leichte weiße Verfärbung im Testfeld oder völlig klares Aussehen der Bouillon definiert.
4. Wenn die Ergebnisse manuell abgelesen werden, die Ergebnisse in das entsprechende Arbeitsblatt eintragen.
5. Ablesen der Identifikationssubstrate
 - A. Alle Substrate sind gegen einen weißen Hintergrund abzulesen, ausgenommen CV, MS, NOV, OPT, NACL und BAC, die vor einem schwarzen (indirekt beleuchteten) Hintergrund abzulesen sind.

- B. Die Ergebnisse für IDX und PHO werden nach 16–20 Stunden Inkubation abgelesen.
- C. Panels mit negativem PGT und weniger als 3 positiven Kohlenhydraten sollten weitere 24 Stunden inkubiert werden, bevor eine endgültige Ablesung und Identifikation vorgenommen wird.
- D. Nur bei Panels mit drei positiven Kohlenhydrat-Reaktionen oder einer positiven PGT-Reaktion sollten nach 16–20 Stunden Reagenzien hinzugefügt werden. Nach 40–44 Stunden müssen unabhängig von der Zahl positiver Tests auf jeden Fall Reagenzien zugesetzt werden.
- E. Vor dem Hinzufügen von Reagenzien werden alle positiven Reaktionen aufgezeichnet.
- F. Reagenzien wie folgt hinzufügen:
- 1 Tropfen 40%ige Kaliumhydroxidlösung (KOH) und 1 Tropfen 5%iges α -Naphthol zum VP-Testfeld hinzufügen. Vor dem Ablesen mindestens 20 Minuten warten, damit sich die VP-Reaktion entwickeln kann.
 - Je 1 Tropfen 0,8%ige Sulfanilsäure und 0,5%ige N,N-Dimethyl- α -Naphthylaminlösung zum NIT-Testfeld hinzufügen. Vor dem Ablesen mindestens 5 Minuten warten, damit sich die NIT-Reaktion entwickeln kann.
 - 2 Tropfen Peptidase-Reagenz zum PYR-Testfeld hinzufügen. Vor dem Ablesen 2 Minuten warten.
- G. Der Abschnitt ERGEBNISSE enthält Informationen, die bei der biochemischen Interpretation behilflich sind.

ERGEBNISSE

1. Biochemische Interpretationen

Testfeld	Reagenz	Positiv	Negativ
CV MS NOV OPT NACL BAC		Wachstum	Kein Wachstum
NIT	1 Tropfen 0,8%ige Sulfanilsäure und 1 Tropfen 0,5%ige N,N-Dimethyl- α -Naphthylaminlösung hinzufügen. 5 Minuten warten, damit sich die Reaktion entwickeln kann.	Rosa bis rot	Klar (farblos), ein ganz schwaches Rosa möglich
PGR PHO PGT	Jede Schattierung von Gelb ist als positiv zu interpretieren. NOV-Testfeld als negative Kontrolle verwenden.	Gelb	Klar (farblos)
IDX		Blau bis grau/Ausfällung	Klare (farbloße) oder weiße Ausfällung
VP	1 Tropfen 40%ige KOH-Lösung und 1 Tropfen 5%iges α -Naphthol hinzufügen. Mindestens 20 Minuten warten, damit die Reaktion sich entwickeln kann.	Rosa bis rot	Klar (farblos) bis braun, Trübung oder ganz schwaches Rosa möglich
BE		Dunkelbraun bis schwarz	Klar (farblos) bis hellbraun
PYR	2 Tropfen Peptidase-Reagenz hinzufügen. 2 Minuten warten, damit sich die Reaktion entwickeln kann.	Rotorange bis rot	Gelb bis orangerot
ARG		Rosaorange bis rosa	Gelb bis orangefarben
URE		Pink	Gelb bis orangefarben
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Jede Spur von Orange ist als negativ zu interpretieren.	Gelb	Orangefarben bis rot
HEM		Beta	Alpha oder Gamma
LOC	Nur für autoSCAN-4- und WalkAway-Panellesesysteme.		

Identifikation mit Grampositiv-Trockenpanels – Vereinfachte ID-QK¹

QK-Organismus	ATCC-Nummer	Wichtiges Indikatorsubstrat	Erwartetes Ergebnis	Ergebnis außerhalb des Spezifikationsbereichs	Labiles Substrat
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Ja

1. Wichtige Indikatoren für die Qualitätskontrolle werden für die vereinfachte QK durch das CLSI-Dokument M50-A zur Verfügung gestellt.¹⁰ Lesen Sie vor dem Einführen des vereinfachten QK-Programms das Dokument M50-A aufmerksam durch, um weitere Informationen zu erhalten, und überprüfen Sie mit den zuständigen Behörden und Prüfern die Genehmigung.

2. Grundlagen der Identifikationsreaktionen

Kristallviolett (CV): Wachstum in Gegenwart geringer Konzentrationen von Kristallviolett dient zur Unterscheidung von Streptokokken (positiv) und Staphylokokken (meist negativ).

Mikrokokken-Screen (MS): Wachstum in Gegenwart geringer Konzentrationen von Bacitracin (0,05 µg/mL) dient zur Unterscheidung zwischen Staphylokokken (positiv) und Mikrokokken (negativ).

Nitrat (NIT): Die Reduktion von Nitrat zu Nitrit wird durch eine Rotfärbung nach Hinzufügung von 0,8%iger Sulfanilsäure und 0,5%igem N,N-Dimethyl- α -Naphthylamin nachgewiesen. Streptokokken sind nitratnegativ, während die meisten Staphylokokken nitratpositiv sind.

Novobiocin (NOV): Resistenz gegenüber geringen Konzentrationen (1,6 µg/mL) Novobiocin ist charakteristisch für einige Staphylokokken.

Glycosidasen (PGR, PGT): Die Fähigkeit eines Organismus, ein bestimmtes Glycosidaseenzym zu bilden, wird durch Spaltung des p-Nitrophenyl-Kohlenhydrat-Komplexes nachgewiesen, wodurch gelb gefärbtes p-Nitrophenol freigesetzt wird.

Indoxylphosphatase (IDX): Die Hydrolyse von Indoxylphosphat durch das Enzym Indoxylphosphatase ergibt eine unlösliche blaue Verbindung. Die meisten Koagulase- und DNase-positiven Staphylokokken sind IDX-positiv.

Voges-Proskauer (VP): Acetylmethylcarbinol aus Glucose reagiert mit 40%igem Kaliumhydroxid und 5%igem α -Naphthol und ergibt dabei eine rote Farbe.

Optochin (OPT): Empfindlichkeit gegenüber Optochin ist ein Charakteristikum von *Streptococcus pneumoniae*. Andere Streptokokken und Staphylokokken werden durch Optochin nicht gehemmt.

Phosphatase (PHO): Alkalische Phosphatase spaltet p-Nitrophenylphosphat in anorganisches Phosphat und p-Nitrophenol, das gelb gefärbt ist.

Gallen-Aeskulin (BE): Organismen, die in einer 40%igen Gallenlösung wachsen und Aeskulin hydrolysieren können, werden aufgrund einer schwarzen Ausfällung nachgewiesen, die durch die Reaktion des Hydrolyseprodukts Aesculetin mit Eisen(III)-Citrat entsteht. Gruppe-D-Streptokokken, einige Viridans-Streptokokken und einige Staphylokokken sind BE-positiv.

Pyrrolidonyl- β -Naphthylamid (PYR): Organismen, die Pyrrolidonase produzieren, spalten L-Pyrrolidonyl- β -Naphthylamid in L-Pyrrolidon und β -Naphthylamin, das sich mit dem Peptidase-Reagenz (p-Dimethyl-Aminocinnamaldehyd) verbindet und eine rote Farbe ergibt.

Arginin (ARG): Durch die Dehydrolisierung von Arginin wird der Nährboden stärker alkalisch, was durch eine Farbänderung des Phenolrot-Indikators von gelb nach rot angezeigt wird.

Harnstoff (URE): Das Enzym Urease spaltet Harnstoff unter Bildung von Ammoniak. Der sich hierdurch ergebende pH-Anstieg wird vom Phenolrot-Indikator angezeigt.

Kohlenhydrate (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): Die Fermentierung eines spezifischen Kohlenhydrats resultiert in Säurebildung. Der damit verbundene pH-Abfall wird dadurch angezeigt, dass der Phenolrot-Indikator seine Farbe nach Gelb ändert.

6,5 % NaCl (NACL): Eine Toleranz gegen 6,5%ige Natriumchlorid-Lösung wird durch ein Wachstum nachgewiesen. Die Kochsalztoleranz unterscheidet Enterokokken von Nicht-Enterokokken.

Bacitracin (BAC): Die Empfindlichkeit gegenüber Bacitracin in niedrigen Konzentrationen wird durch fehlendes Wachstum angezeigt und ist charakteristisch für *Streptococcus pyogenes*.

Pyruvat (PRV): Durch den Verbrauch von Pyruvat entsteht Säure. Der damit verbundene pH-Abfall wird dadurch angezeigt, dass der Phenolrot-Indikator seine Farbe nach Gelb ändert.

Hämolyse (HEM): Streptolysin S und O, die von Streptokokken produziert werden, bewirken eine vollständige oder teilweise Lyse der Erythrozyten in Schafsblut-Agar.

3. Organismusidentifikation

Zur Identifikation von unbekannten Testorganismen ist das MicroScan Biotype Lookup Program für getrocknete grampositive Organismen heranzuziehen. Der Inhalt dieses Suchprogramms entstammt der eigenen Datenbank von MicroScan. Das Lookup Program für grampositive Organismen bietet Computeranalysen von 27 Tests auf *Streptococcaceae* und von 18 Tests auf *Micrococcaceae*. Diese Tests werden jeweils in eine 9 oder 6 Zeichen lange Biotypnummer umgewandelt. Methoden zur Aufzeichnung von Ergebnissen sind im Programm verzeichnet. Das Programm führt die Organismen-Identifizierung und die relativen Wahrscheinlichkeiten auf. Alle Möglichkeiten sind in der Reihenfolge der höchsten Wahrscheinlichkeit aufgelistet, bis hin zu einer Gesamtwahrscheinlichkeit von 99,9 %. Das Programm ist in 2 Bereiche unterteilt: *Micrococcaceae* und *Streptococcaceae*.

Ziehen Sie bei einem Biotyp mit dem Ergebnis „Very Rare Biotype“ (Sehr seltener Biotyp) die LabPro-Software (Utilities (Dienstprogramme)>System (System)>Biotype Lookup (Biotype Lookup)) oder das Biotype Lookup Program auf der Website von Beckman Coulter zurate bzw. wenden Sie sich an den für Sie zuständigen Händler.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Im CLSI-Dokument M7-A7 wird für Tests auf anspruchsvolle Streptokokken die Anreicherung von Müller-Hinton-Bouillon mit lysiertem Pferdeblut empfohlen. Das MicroScan Grampositiv-Trockenpanel weicht von dieser Empfehlung ab. Bildet sich im Wachstumstestfeld kein ausreichendes Wachstum, sind die biochemischen Ergebnisse ungültig, und es sollte eine alternative Methode verwendet werden.
2. Anaerobe Bakterien – Die Grampositiv-ID-Panels sind für das Testen von anaeroben grampositiven Kokken ungeeignet.
3. Es können zusätzliche Tests für die endgültige Identifikation erforderlich sein, wenn eine Identifikation mit geringer Wahrscheinlichkeit vorliegt (< 85 %, siehe das MicroScan Biotype Lookup Program für aerobe grampositive Organismen oder das Dokument „Microbiologics Manual“ (Handbuch für Mikrobiologie)).
4. 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.
5. Biotypnummern sind für die Phänotypidentifikation von Stämmen, die aus verschiedenen Proben desselben Patienten isoliert wurden, nicht heranzuziehen.
6. Vancomycin-resistente *E. faecium* sind von *E. gallinarum* durch Beweglichkeits- und Pigmentproduktionstests unterscheidbar. Weitere Informationen bitte der zusätzlichen Testtabelle im „Microbiologics Manual“ (Handbuch für Mikrobiologie) entnehmen.

ERWARTETE WERTE

Sollwerte für biochemische Substrate enthält das Dokument „Percent Chart“ (Prozenttabelle) im „Microbiologics Manual“ (Handbuch für Mikrobiologie).

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Eignung der Identifikationsmedien sollte durch die Testung von Organismen mit bekanntem Reaktionsverhalten überprüft werden. Die Ergebnisse der empfohlenen Kontrollorganismen nach American Type Culture Collection (ATCC) sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.*

Qualitätskontrolltabelle für Identifikationssubstrate in den getrockneten Grampositiv-Panels

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	n. Z.	n. Z.
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	n. Z.
NOV ²	-	n. Z.	-	n. Z.
PGR ²	-	-	-	n. Z.
IDX	+	n. Z.	n. Z.	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	n. Z.
PHO	+	n. Z.	-	n. Z.
BE	-	+	+	n. Z.
PYR	n. Z.	+	-	n. Z.
ARG	+	+	-	n. Z.
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	n. Z.
MAN	+	+	+	-
LAC	+	n. Z.	+	-
TRE	n. Z.	+	+	-
MNS	n. Z.	+	+	-
NACL	n. Z.	+	-	n. Z.
SOR	n. Z.	+	-	n. Z.
ARA ²	n. Z.	-	-	n. Z.
RBS	n. Z.	+	-	n. Z.
INU	n. Z.	-	+	n. Z.
RAF	n. Z.	-	+	n. Z.
BAC ²	n. Z.	+	+	n. Z.
PRV	n. Z.	+	-	n. Z.

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA

2. Die Zusatztesttabelle liefert weitere Informationen über positive oder negative Reaktionen je nach biochemischer Substanz.

3. Kann 24 Stunden Inkubationszeit erfordern.

n. Z. = nicht zutreffend

*American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA.

HINWEIS: Die Organismen zur Qualitätskontrolle sind so ausgewählt, dass sie positive/negative Reaktionen für alle Identifikationssubstrate ergeben. Daraus ergibt sich, dass die Organismusidentifikationen von jenen abweichen können, die in der QK-Tabelle angegeben sind. Die einwandfreie Produktleistung sollte durch den Vergleich der Testergebnisse, nicht der Identifikation, ermittelt werden.

Zusatztesttabelle

Organismus	Substrat	Erwartetes Ergebnis
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Identifizierung

Die Leistungsmerkmale des MicroScan Grampositiv-Typ-3-Trockenpanels wurden mithilfe des Grampositiv-Typ-2-Trockenpanels in einer multizentrischen Studie untersucht. Klinische Isolate und Standardstämme wurden mit Grampositiv-ID-Typ-3-Trockenpanels und herkömmlichen Röhrenverfahren getestet, um die Art von Bakterienpopulationen nachzubilden, die in einem normalen klinischen Labor erwartet werden. Eine vollständige Liste der in dieser Datenbank enthaltenen Organismen wird im „MicroScan System Microbiology Information Manual“ (Mikrobiologisches Informationshandbuch für das MicroScan-System) unter Abschnitt 4 „Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria“ (Konventionelle Grampositiv-Trockenpanels: grampositive aerobe Bakterien) zur Verfügung gestellt.

Die Ergebnisse der Grampositiv-ID-Typ-3-Trockenpanels für *Micrococcaceae* stimmten sowohl auf Spezies- als auch auf Gruppenebene mit 97,5 % (157 von 161) der Isolate überein. Nur bei 5,6 % (9 von 161) der Isolate waren zusätzliche Bestätigungstests auf Spezies mit einer geringen Auftretenswahrscheinlichkeit oder zur Identifikation auf Gruppenebene erforderlich.

Die Ergebnisse der Trockenplatten für Grampositive Typ 3 für *Streptococcaceae* stimmten auf Speziesebene zu 91,3 % (230 von 252) und auf Gruppenebene zu 92,1 % (232 von 252) überein. Nur bei 14,3 % (36 von 252) der Isolate waren zusätzliche Bestätigungstests auf Spezies erforderlich; nur bei 4,4 % (11 von 252) der Isolate waren Tests auf Gruppen mit einer geringen Auftretenswahrscheinlichkeit erforderlich.

GARANTIE

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

Liste der Symbole

Symbol	Symbolbezeichnung	Beschreibung der Norm	Standard
	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
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Manuale delle procedure per i pannelli gram-positivi ID tipo 3)

REF B1017-221

USO PREVISTO

Per l'uso con i pannelli gram-positivi disidratati ID tipo 3 MicroScan. I pannelli gram-positivi disidratati ID tipo 3 MicroScan sono ideati per l'uso nell'identificazione a livello di specie dei cocchi gram-positivi aerobi e facoltativi a rapida crescita, di alcuni cocchi gram-positivi aerobi esigenti e di *Listeria monocytogenes*. Consultare la sezione Limiti della procedura per l'uso con gli streptococchi esigenti.

RIEPILOGO E PRINCIPIO

Per l'identificazione di *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* e *Listeria monocytogenes* vengono utilizzati test cromogenici e convenzionali modificati. L'identificazione si basa sul rilevamento delle variazioni del pH, dell'utilizzo del substrato e della crescita in presenza di agenti antimicrobici dopo 16–44 ore di incubazione a 35 °C.^{1,2,3,4,5,6,7}

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Solo per uso diagnostico *in vitro*.
2. Durante l'esecuzione di tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e attenersi a tutte le precauzioni contro i rischi microbiologici, ricordando sempre che i pannelli inoculati contengono organismi potenzialmente patogeni.
3. Il materiale contiene agenti infettivi e deve essere smaltito conformemente alle procedure previste per i rifiuti a rischio biologico.
4. I risultati di questo test devono essere sempre interpretati alla luce dell'anamnesi del paziente, della presentazione clinica e valutando contestualmente l'esito di altri accertamenti.
5. Il pozzetto di crescita e il pozzetto OPT contengono lo 0,005% di emina di bovino allo stato cristallino.

CONSERVAZIONE

Conservare i pannelli Gram positivi disidratati a 2–25 °C.

CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Classificato non pericoloso

SDS

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

INDICI DI DETERIORAMENTO

L'esposizione prolungata a condizioni di conservazione diverse da quelle raccomandate può provocare l'idrolisi dei substrati di identificazione. Non usare oltre la data di scadenza. Per ulteriore assistenza, contattare il rappresentante o il distributore Beckman Coulter.

PRELIEVO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

I campioni devono essere raccolti, trasportati e seminati su terreni di coltura a isolamento primario in base alle procedure indicate nel *Manual of Clinical Microbiology* (Manuale di microbiologia clinica).⁸

MATERIALI FORNITI

ID positivo tipo 3 (B1017-221)

Manuale delle procedure

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Standard di torbidità 0,5 McFarland

N, N-Dimetil-alfa-naftilamina 0,5%, 30 mL (B1010-45A) o 250 mL (B1015-45)

Acido sulfanilico 0,8%, 30 mL (B1010-44A) o 250 mL (B1015-44)

Pipettatrice da 100 µL con puntali sterili monouso

Alfa-Naftolo 5%, 30 mL (B1010-42A)

Idrossido di potassio 40%, 30 mL (B1010-43A) o 250 mL (B1015-43)

Coperchi (B1010-56B)

Attrezzatura generale di laboratorio

Set Inoculator-D (B1013-4)

Acqua per inoculo, 3 mL (B1015-2)

Acqua per inoculo con PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Visualizzatore per microdiluizioni

Olio minerale, 60 mL (B1010-40)

Olio minerale, 250 mL (B1010-40A) – SOLO per l'uso con gli strumenti WalkAway *SI* e WalkAway *plus* (e gli strumenti WalkAway aggiornati con la funzione automatica di overlay dell'olio)

Sistema di inoculo Prompt® (B1026-10D)**

Organismi per il controllo di qualità (consultare la sezione relativa al QC di questo manuale)

Reagente alla peptidasi, 30 mL (B1012-30B) o 250 mL (B1015-30)

Kit contagocce reagente (B1013-12A)

Reidratatore/inoculatore RENOK (B1018-14) o equivalente

Turbidimetro

Agitare su vortex

Carta per etichette codici a barre (B1018-129)

Coperchi WalkAway (B1018-18)

PROCEDURA

Preparazione dei pannelli

1. Estrarre dalla confezione i pannelli da utilizzare. **Non utilizzare i pannelli in presenza delle seguenti condizioni.**
 - A. Essiccante non presente o danneggiato.
 - B. I pozzetti dei pannelli sono scoloriti (ad esempio PHO).
 - C. L'integrità della confezione è compromessa (confezione dissigillata, forata o strappata)
2. Aprire l'involucro ed estrarre il pannello. Se conservato in frigorifero, estrarre subito il pannello dall'involucro. Lasciare equilibrare i pannelli a temperatura ambiente prima della reidratazione. I pannelli possono essere impilati e coperti con un coperchio pulito. Tutti i pannelli estratti dalla confezione devono essere utilizzati il giorno stesso oppure devono essere eliminati.

ID positivo tipo 3

Substrati di identificazione	Abbr.	Substrati di identificazione	Abbr.
Violetto di genziana	CV	Urea	URE
Screening con micrococcus	MS	Mannitolo	MAN
Nitrati	NIT	Lattosio	LAC
Novobiocina	NOV	Trealosio	TRE
PNP-β-D-glucuronide	PGR	Mannosio	MNS
Fosfatasi indossile	IDX	Cloruro di sodio al 6,5%	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbitolo	SOR
Optochina	OPT	Arabinosio	ARA
Fosfatasi	PHO	Ribosio	RBS
Bile esculina 40%	BE	Inulina	INU
L-pirrolidonil-β-naftilamide	PYR	Raffinosio	RAF
Arginina	ARG	Bacitracina	BAC
PNP-β-D-galattopiranoside	PGT	Piruvato	PRV

Preparazione dell'inoculo

CLSI raccomanda di verificare periodicamente le densità degli inoculi mediante conta delle colonie. Per le raccomandazioni relative alla conta delle colonie, consultare il documento di CLSI M7-A7 sezione 10.3.1.3. I risultati attesi per *E. coli* ATCC 25922 devono essere pari o quasi a 5×10^5 CFU/mL per le concentrazioni finali del test.⁹ L'utente deve prestare grande attenzione alla preparazione dell'inoculo, in particolare con i metodi manuali dipendenti dalla tecnica come il sistema Prompt o un inoculo preparato senza l'aiuto di un dispositivo fotometrico.

Nota: i prodotti MicroScan non supportano le tecniche della fase stazionaria e logaritmica.

1. Tecnica dello standard di torbidità - Metodo primario per l'inoculo

La tecnica dello standard di torbidità è consigliata per l'inoculazione diretta di tutti i cocci gram-positivi aerobi.

*Tensioattivi PLURONIC®, un marchio commerciale registrato di BASF Corporation, Parsippany, NJ USA

**3M, St. Paul, MN USA

- A. Servendosi di un bastoncino, di un anello o di un tampone sterile, prelevare dalla superficie 4–5 colonie grandi o 5–10 colonie piccole ben isolate, morfologicamente simili, cresciute su una piastra di agar senza inibitori per 18–24 ore.
- B. Emulsionare in 3 mL di acqua per inoculo (acqua deionizzata sterilizzata in autoclave). La torbidità finale deve essere equivalente a quella di uno standard di torbidità 0,5 McFarland. È possibile ottenere una torbidità equivalente utilizzando un turbidimetro MicroScan con un intervallo di $0,08 \pm 0,02$. Chiudere saldamente.
- C. Miscelare la sospensione in vortex per 2–3 secondi.
- D. Pipettare 0,1 mL (100 μ L) della sospensione standardizzata in 25 mL di acqua per inoculo con PLURONIC. Tappare bene. Capovolgere 8–10 volte per mescolare.

2. Sistema Prompt

Il sistema Prompt può essere utilizzato per i cocci gram-positivi a crescita più rapida. Per un utilizzo corretto del sistema Prompt, consultare Prompt Inoculation Procedural Manual (Manuale di procedura del sistema Prompt).

Nota: usare con cautela. In caso di organismi non conformi ai requisiti dimensionali, l'inoculo potrebbe risultare insufficiente. Un inoculo insufficiente potrebbe compromettere l'attendibilità dei risultati dei test di identificazione.

Reidratazione/inoculazione dei pannelli

La reidratazione e l'inoculazione vengono eseguite utilizzando il sistema RENOK con set Inoculator-D (B1013-4). Per l'uso, consultare RENOK Operator's Manual (Manuale dell'operatore del sistema RENOK). Se si utilizza un sistema alternativo, reidratare con 115 + 10 μ L di acqua per inoculo (PLURONIC). La concentrazione finale nei pozzetti deve essere pari a $3-7 \times 10^5$ CFU/mL.

Per garantire la vitalità e la purezza dell'organismo in esame, preparare una piastra di isolamento strisciando l'inoculo su una piastra di agar idonea e incubandolo alle giuste condizioni. Se sulla piastra di isolamento sono presenti due o più tipi di colonie, reisolare le colonie e sottoporre a nuovo test.

Overlay biochimici

1. Servendosi di una boccetta contagocce, ricoprire i pozzetti ARG e URE con almeno 3 gocce di olio minerale. (I pozzetti in oggetto sono sottolineati sul pannello.)
2. Ricoprire interamente i terreni contenuti nei pozzetti con olio minerale, senza farlo fuoriuscire.

Nota: gli strumenti WalkAway S/ e WalkAway *plus* (e gli strumenti WalkAway aggiornati con la funzione automatica di overlay dell'olio) aggiungono automaticamente l'olio ai pozzetti appropriati.

Incubazione

1. I pannelli possono essere incubati in un sistema WalkAway o in un termostato qualsiasi seguendo le fasi indicate:
 - A. Per garantire una distribuzione termica uniforme durante l'incubazione, impilare i pannelli in gruppi di 3–5.
 - B. Posizionare un coperchio pulito sopra ciascun gruppo di pannelli per impedire l'evaporazione. I coperchi possono essere riutilizzati. Non decontaminare i coperchi con alcool. Per pulirli è possibile utilizzare acqua e sapone. Risciacquare bene e lasciar asciugare all'aria.
 - C. Incubare i pannelli per 16–20 ore a 35 °C in un incubatore non a CO₂.

Lettura dei pannelli

I pannelli possono essere letti visivamente utilizzando il visualizzatore per microdiluizione MicroScan e i risultati possono essere registrati su un Manual Panel Worksheet (Foglio di lavoro manuale per pannelli) (vedere la sezione Materiale necessario ma non fornito del presente manuale) oppure utilizzando uno strumento MicroScan (sistemi touchSCAN-SR, autoSCAN-4 e WalkAway). Per leggere i pannelli con la strumentazione MicroScan, consultare il relativo manuale dell'operatore.

1. Dopo 16–20 ore di incubazione, rimuovere i pannelli dall'incubatore.
2. Pulire la parte inferiore del pannello con un panno privo di lanugine per rimuovere eventuali detriti o condensa.
3. Leggere i pannelli solo se il pozzetto di controllo è trasparente e il pozzetto di controllo della crescita è torbido. La torbidità può assumere l'aspetto di un velo su tutto il pozzetto, di un cerchio bianco al centro del pozzetto o di una crescita granulare fine in tutto il pozzetto. Una crescita inadeguata è definita da un lieve alone biancastro nel pozzetto o dal brodo trasparente.
4. Se i risultati vengono letti manualmente, registrarli sul foglio di lavoro appropriato.
5. Lettura dei substrati di identificazione
 - A. Leggere tutti i substrati di identificazione su uno sfondo bianco, ad eccezione di CV, MS, NOV, OPT, NACL e BAC per i quali si deve utilizzare uno sfondo nero (a illuminazione indiretta).
 - B. I risultati IDX e PHO vengono registrati dopo 16–20 ore di incubazione.
 - C. I pannelli con PGT negativa e meno di 3 carboidrati positivi devono essere reincubati per altre 24 ore prima della lettura e dell'identificazione finali.

- D. È necessario aggiungere reagenti dopo 16–20 ore solo nei pannelli con 3 carboidrati o reazione PGT positiva. Dopo 40–44 ore, aggiungere reagenti indipendentemente dal numero di test positivi.
- E. Prima di aggiungere i reagenti, registrare tutte le reazioni positive.
- F. Aggiungere i reagenti nel modo seguente:
- Aggiungere al pozzetto VP 1 goccia di idrossido di potassio (KOH) al 40% e 1 goccia di alfa-naftolo al 5%. Attendere almeno 20 minuti affinché si verifichi la reazione VP, quindi leggere i risultati.
 - Aggiungere 1 goccia di acido sulfanilico allo 0,8% e 1 goccia di N,N-dimetil-alfa-naftilamina allo 0,5% nel pozzetto NIT. Attendere almeno 5 minuti affinché si verifichi la reazione NIT, quindi leggere i risultati.
 - Aggiungere 2 gocce di reagente per peptidasi nel pozzetto PYR. Attendere 2 minuti prima di leggere i risultati.
- G. Per assistenza nell'interpretazione biochimica, consultare la sezione RISULTATI.

RISULTATI

1. Interpretazioni biochimiche

Pozzetto	Reagente	Positivo	Negativo
CV MS NOV OPT NACL BAC		Crescita	Assenza di crescita
NIT	Aggiungere 1 goccia di acido sulfanilico allo 0,8% e 1 goccia di N,N-dimetil-alfa-naftilamina allo 0,5%. Attendere 5 minuti affinché si verifichi la reazione.	Da rosa a rosso	Trasparente (incolore), può essere di colore rosa molto chiaro
PGR PHO PGT	Tutte le sfumature di giallo devono essere interpretate come positive. Utilizzare il pozzetto NOV come controllo negativo.	Giallo	Trasparente (incolore)
IDX		Da blu a grigio/precipitato	Trasparente (incolore) o precipitato bianco
VP	Aggiungere 1 goccia di KOH al 40% e 1 goccia di alfa-naftolo al 5%. Attendere almeno 20 minuti affinché si verifichi la reazione.	Da rosa a rosso	Da trasparente (incolore) a marrone, può essere torbido o di colore rosa molto chiaro
BE		Da marrone scuro a nero	Da trasparente (incolore) a marrone chiaro
PYR	Aggiungere 2 gocce di reagente per peptidasi. Attendere 2 minuti affinché si verifichi la reazione.	Da rosso/arancione a rosso	Da giallo ad arancione/rosso
ARG		Da rosa/arancione a rosa	Da giallo ad arancione
URE		Rosa	Da giallo ad arancione
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Tutte le tonalità di arancione devono essere considerate negative.	Giallo	Da arancione a rosso
HEM		Beta	Alfa o gamma
LOC	Solo per il riconoscimento dei pannelli nei sistemi autoSCAN-4 e WalkAway.		

Identificazione gram positivi disidratati - QC ID ottimizzato ¹					
Organismo QC	Numero ATCC	Substrato indicatore chiave	Risultato atteso	Risultato esterno alle specifiche	Substrato labile
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Si

1. Gli indicatori chiave per il controllo di qualità vengono forniti per il QC ottimizzato ai sensi del documento di CLSI M50-A.¹⁰ Prima dell'implementazione del programma di QC ottimizzato, fare riferimento al documento M50-A per i dettagli e confermarne l'accettazione rivolgendosi agli enti normativi e ai gruppi di ispezione competenti.

2. Principi delle reazioni di identificazione

Crystal violet (CV): la crescita in presenza di basse concentrazioni di crystal violet è utilizzata per differenziare gli streptococchi (positivi) dagli stafilococchi (per lo più negativi).

Screening dei micrococchi (MS): la crescita in presenza di basse concentrazioni di bacitracina (0,05 µg/mL) viene utilizzata per differenziare gli stafilococchi (positivi) dai micrococchi (negativi).

Nitrato (NIT): la riduzione da nitrato a nitrito viene rilevata mediante la formazione di un colore rosso in seguito all'aggiunta di acido sulfanilico allo 0,8% e N,N-dimetil-alfa-naftilamina allo 0,5%. Gli streptococchi sono negativi ai nitrati, mentre la maggior parte degli stafilococchi è positiva ai nitrati.

Novobiocina (NOV): la resistenza alle basse concentrazioni (1,6 µg/mL) di novobiocina è tipica di alcuni stafilococchi.

Glicosidasi (PGR, PGT): la capacità di un organismo di produrre uno specifico enzima, la glicosidasi, viene rilevata mediante l'idrolisi del complesso p-nitrofenil-carboidrato che rilascia p-nitrofenolo di colore giallo.

Fosfatasi indossile (IDX): l'idrolisi del fosfato indossile mediante l'enzima fosfatasi indossile dà luogo a un composto blu insolubile. La maggior parte degli stafilococchi coagulasi e DNasi positivi sono IDX positivi.

Voges-Proskauer (VP): l'acetilmetilcarbinolo, prodotto dal glucosio, reagisce con l'idrossido di potassio al 40% e con l'alfa-naftolo al 5% dando luogo a un colore rosso.

Optochina (OPT): la sensibilità all'optochina è caratteristica di *Streptococcus pneumoniae*. Altri streptococchi e stafilococchi non sono inibiti dall'optochina.

Fosfatasi (PHO): la fosfatasi alcalina converte il p-nitrofenil fosfato in fosfato organico e p-nitrofenolo, di colore giallo.

Esculina bile (BE): gli organismi in grado di crescere in presenza di bile al 40% e di idrolizzare l'esculina vengono rilevati mediante la produzione di un precipitato nero ottenuto dalla reazione dell'esculetina prodotta dall'idrolisi con citrato ferrico. Gli streptococchi di gruppo D, alcuni streptococchi viridans e alcuni stafilococchi sono BE-positivi.

Pirrolidonil-β-naftilammide (PYR): gli organismi che producono pirrolidonasi idrolizzano L-pirrolidonil-β-naftilammide in L-pirrolidone e β-naftilamina che si combina con il reagente per peptidasi (p-dimetil-amminocinnamaldehyde) per produrre un colore rosso.

Arginina (ARG): la deidrolizzazione dell'arginina determina un'alcalinizzazione del terreno rilevata mediante una variazione cromatica da giallo a rosso nell'indicatore rosso di fenolo.

Urea (URE): l'ureasi enzimatica idrolizza l'urea formando ammoniaca. Il conseguente aumento del pH viene rilevato dall'apposito indicatore rosso di fenolo.

Carboidrati (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): la fermentazione di un carboidrato specifico porta alla formazione di acido. Il conseguente abbassamento del pH viene rilevato dall'indicatore rosso di fenolo che diventa giallo.

NaCl al 6,5% (NACL): la tolleranza al cloruro di sodio al 6,5% è dimostrata dalla crescita. La tolleranza al sale viene utilizzata per differenziare gli enterococchi dai non enterococchi.

Bacitracina (BAC): la sensibilità alle basse concentrazioni di bacitracina è indicata dall'assenza di crescita ed è tipica di *Streptococcus pyogenes*.

Piruvato (PRV): l'utilizzo del piruvato provoca la formazione di acido. La conseguente diminuzione del pH viene rilevata dall'indicatore rosso di fenolo che diventa giallo.

Emolisi (HEM): la streptolisina S e la streptolisina O prodotte dagli streptococchi causano la lisi parziale o completa dei globuli rossi nell'agar contenente sangue di pecora.

3. Identificazione del microrganismo

La funzionalità Biotype Lookup Program per biotipi gram-positivi disidratati MicroScan viene utilizzata per l'identificazione degli organismi sconosciuti in esame. Questo programma è stato generato dal database di MicroScan. La funzionalità Lookup Program per biotipi gram-positivi consente l'analisi su computer di 27 test per *Streptococcaceae* e 18 test per *Micrococcaceae*. Questi test sono tradotti rispettivamente in numeri di biotipo a 9 o 6 cifre. Per il metodo di registrazione dei risultati, consultare il programma. Il programma elenca l'identificazione degli organismi e le relative probabilità. Tutte le possibili identificazioni sono elencate in ordine decrescente di probabilità fino a un totale cumulativo del 99,9%. Il programma è suddiviso in 2 sezioni: *Micrococcaceae* e *Streptococcaceae*.

Se si ottiene un biotipo corrispondente a "Very Rare Biotype" (Biotipo rarissimo), consultare il software LabPro (Utilities (Utilità)>System (Sistema)>Biotype Lookup (Ricerca biotipo)) o il servizio Biotype Lookup sul sito web di Beckman Coulter oppure il proprio distributore.

LIMITI DEL METODO

1. Il documento di CLSI M7-A7 raccomanda l'integrazione del brodo Mueller-Hinton con sangue di cavallo lisato nell'analisi degli streptococchi esigenti. La procedura dei pannelli MicroScan gram-positivi disidratati differisce da questa raccomandazione. Se nel pozzetto di crescita si assiste a una crescita inadeguata, i risultati biochimici non sono validi ed è necessario utilizzare un metodo alternativo.
2. Batteri anaerobi - Il pannello ID positivo non è indicato per l'analisi dei cocci gram-positivi anaerobi.

- Quando si ottiene una bassa probabilità di identificazione (<85%) possono essere necessari altri test per ottenere l'identificazione finale (consultare MicroScan Biotype Lookup Program per organismi aerobi gram-positivi o Microbiology Manual (Manuale di microbiologia)).
- L'interpretazione dei risultati dei test richiede personale clinico addestrato che, se necessario, utilizzi il proprio giudizio, le proprie conoscenze e altri test di conferma prima di accettare l'identificazione di un microrganismo.
- I numeri di biotipo non devono essere utilizzati per l'identificazione del fenotipo di ceppi isolati da vari campioni dello stesso paziente.
- È possibile differenziare l'*E. faecium* resistente alla vancomicina dall'*E. gallinarum* verificando la mobilità e la produzione di pigmento. Per ulteriori informazioni, consultare la tabella dei test supplementari nel Microbiology Manual (Manuale di microbiologia).

VALORI ATTESI

Per i valori previsti con i substrati biochimici, consultare Percent Chart (Grafico delle percentuali) contenuto in Microbiology Manual (Manuale di microbiologia).

CONTROLLO DI QUALITÀ

L'accettabilità dei terreni di identificazione deve essere controllata testando organismi con reazioni note. Nella tabella seguente sono riportati i risultati relativi agli organismi di controllo raccomandati dall'American Type Culture Collection (ATCC).*

Tabella del controllo di qualità dei substrati di identificazione gram-positivi disidratati

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	N/D	N/D
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	N/D
NOV ²	-	N/D	-	N/D
PGR ²	-	-	-	N/D
IDX	+	N/D	N/D	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	N/D
PHO	+	N/D	-	N/D
BE	-	+	+	N/D
PYR	N/D	+	-	N/D
ARG	+	+	-	N/D
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	N/D
MAN	+	+	+	-
LAC	+	N/D	+	-
TRE	N/D	+	+	-
MNS	N/D	+	+	-
NACL	N/D	+	-	N/D
SOR	N/D	+	-	N/D
ARA ²	N/D	-	-	N/D
RBS	N/D	+	-	N/D
INU	N/D	-	+	N/D
RAF	N/D	-	+	N/D
BAC ²	N/D	+	+	N/D
PRV	N/D	+	-	N/D

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Per ulteriori reazioni positive o negative necessarie per ogni elemento biochimico, consultare la tabella dei test supplementari.

3. Potrebbe essere necessaria un'incubazione di 24 ore.

N/D = Non disponibile

NOTA: gli organismi del controllo di qualità vengono selezionati per ottenere reazioni positive/negative da tutti i substrati di identificazione. Di conseguenza, le identificazioni degli organismi potrebbero risultare diverse da quelle indicate nel grafico del QC. L'accettabilità delle prestazioni del prodotto deve essere stabilita confrontando i risultati del test, non l'identificazione.

Tabella dei test supplementari

Organismo	Substrato	Risultato atteso
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xyloso</i> ATCC 49148	PGR	+

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

Organismo	Substrato	Risultato atteso
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Individuazio- ne

Le prestazioni dei pannelli gram-positivi disidratati tipo 3 MicroScan sono state determinate utilizzando il pannello gram-positivo disidratato tipo 2 in uno studio multicentrico. Isolati clinici e ceppi di controllo rappresentanti una popolazione batterica tipica di un laboratorio clinico sono stati analizzati con il pannello ID positivo disidratato tipo 3 e metodologie convenzionali in provetta. Consultare MicroScan System Microbiologics Information Manual (Manuale di informazioni microbiologiche del sistema MicroScan), sezione 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria (Pannelli positivi convenzionali disidratati: batteri aerobi gram-positivi) per un elenco completo degli organismi inclusi nel database.

I risultati di *Micrococcaceae* per il pannello ID positivo disidratato tipo 3 concordavano a livello di gruppo e di specie con il 97,5% (157/161) degli isolati. Solo il 5,6% (9/161) degli isolati ha richiesto altri test per la conferma dell'identificazione a bassa probabilità a livello di gruppo o specie.

I risultati di *Streptococcaceae* analizzate con il pannello disidratato ID positivo tipo 3 concordavano a livello di specie con il 91,3% (230/252) e a livello di gruppo con il 92,1% (232/252). Solo il 14,3% (36/252) degli isolati ha richiesto altri test per la conferma dell'identificazione a bassa probabilità a livello di specie; solo il 4,4% (11/252) degli isolati ha richiesto altri test per la conferma dell'identificazione a bassa probabilità a livello di gruppo.

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
	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

Elenco descrizioni simboli			
Simbolo	Titolo del simbolo	Descrizione dello standard	Standard
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Manual de procedimiento para paneles tipo 3 para identificación de grampositivos)

REF B1017-221

INDICACIONES

Para su utilización con paneles tipo 3 de identificación de grampositivos deshidratados de MicroScan. Los paneles tipo 3 de identificación de grampositivos deshidratados de MicroScan están diseñados para determinar la identificación a nivel de especies cocos aerobios y facultativos grampositivos de rápido crecimiento, algunos cocos aerobios grampositivos de cultivo exigente y *Listeria monocytogenes*. Consultar la sección Limitaciones del procedimiento para ver el uso con estreptococos de cultivo exigente.

RESUMEN Y PRINCIPIOS

Se utilizan pruebas convencionales y cromogénicas para identificar *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* y *Listeria monocytogenes*. La identificación se basa en la detección de cambios de pH, la utilización del sustrato y el crecimiento en presencia de antimicrobianos después de 16-44 horas de incubación a 35 °C.^{1,2,3,4,5,6,7}

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Siga las técnicas asépticas y las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos a lo largo de todos los procedimientos, teniendo especial cuidado con los paneles inoculados, que contienen microorganismos potencialmente patógenos.
3. Este material contiene agentes infecciosos y debe desecharse de manera adecuada como un residuo con riesgo biológico.
4. Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.
5. El pocillo de crecimiento y el pocillo de OPT contienen 0,005 % de hemina bovina cristalina.

ALMACENAMIENTO

Los paneles grampositivos deshidratados deben almacenarse a 2-25 °C.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

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

SIGNOS DE DETERIORO

La exposición prolongada en condiciones de almacenamiento distintas a las recomendadas puede producir hidrólisis de los sustratos de identificación. No utilizar después de la fecha de caducidad. Póngase en contacto con el representante o distribuidor de Beckman Coulter para obtener más ayuda.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras apropiadas deben recogerse, transportarse y colocarse en un medio de aislamiento primario, siguiendo los procedimientos recomendados en el *Manual of Clinical Microbiology* (Manual de microbiología clínica).⁸

MATERIALES PROPORCIONADOS

Panel tipo 3 de identificación (B1017-221)

Manual de procedimiento

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Estándar de turbidez de McFarland 0,5

N,N-dimetil-alfa-naftilamina al 0,5 %, 30 mL (B1010-45A) o 250 mL (B1015-45)

Ácido sulfanílico al 0,8 %, 30 mL (B1010-44A) o 250 mL (B1015-44)

Pipeta de 100 µL con puntas estériles desechables

Alfa naftol al 5 %, 30 mL (B1010-42A)

Hidróxido de potasio al 40 %, 30 mL (B1010-43A) o 250 mL (B1015-43)

Paneles cubridores (B1010-56B)

Equipo general de laboratorio

Juego de Inoculators-D (B1013-4)

Agua para inóculo, 3 mL (B1015-2)

Agua para inóculo con PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Visor de microdilución

Aceite mineral, 60 mL (B1010-40)

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

Sistema de inoculación Prompt® (B1026-10D)**

Microorganismos para control de calidad (véase la sección de CC de este manual)

Reactivo de peptidasa, 30 mL (B1012-30B) o 250 mL (B1015-30)

Kit cuentagotas de reactivos (B1013-12A)

Rehidratador/inoculador RENOK (B1018-14) o equivalente

Turbidímetro

Agite

Etiquetas de código de barras (B1018-129)

Tapas para las bandejas WalkAway (B1018-18)

PROCEDIMIENTO

Preparación del panel

1. Extraiga los paneles que se vayan a utilizar del lugar en el que se conservan. **No deben utilizarse los paneles en caso de existir cualquiera de las condiciones siguientes.**
 - A. El desecador no está presente o está dañado.
 - B. Los pocillos del panel están descoloridos (por ejemplo, PHO).
 - C. La integridad del embalaje está comprometida (sin sellar, agujereada o rota).
2. Corte la bolsa para abrirla y retire el panel. Si estaba almacenado en el refrigerador, extraiga inmediatamente el panel de la bolsa de aluminio. Deje que los paneles se atemperen a temperatura ambiente antes de rehidratarlos. Los paneles se pueden apilar con un panel cubridor encima. Todos los paneles deben utilizarse el mismo día, en caso contrario deben desecharse.

Panel tipo 3 de identificación

Sustratos de identificación	Abrev.	Sustratos de identificación	Abrev.
Cristal violeta	CV	Urea	URE
Detección de micrococos	MS	Manita	MAN
Nitrato	NIT	Lactosa	LAC
Novobiocina	NOV	Trehalosa	TRE
PNP-β-D-glucurónido	PGR	Manosa	MNS
Indoxil fosfatasa	IDX	Cloruro de sodio al 6,5 %	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbita	SOR
Optoquina	OPT	Arabinosa	ARA
Fosfatasa	PHO	Ribosa	RBS
Bilis esculina al 40 %	BE	Inulina	INU
L-pirrolidonil-β-naftilamida	PYR	Rafinosa	RAF
Arginina	ARG	Bacitracina	BAC
PNP-β-D-galactopiranosido	PGT	Piruvato	PRV

Preparación del inóculo

CLSI recomienda revisar periódicamente sus densidades de inóculo realizando recuentos de las colonias. Consulte las recomendaciones sobre el recuento de colonias en el apartado 10.3.1.3 del documento M7-A7 de CLSI. Los resultados esperados para *E. coli* ATCC 25922 deben aproximarse bastante al valor de 5×10^6 UFC/mL para las concentraciones finales de la prueba.⁹ El usuario debe prestar especial atención durante la preparación del inóculo, particularmente con los métodos manuales que dependen de técnicas como el sistema Prompt o que el inóculo se prepare sin la ayuda de un dispositivo fotométrico.

Nota: No se admiten las técnicas de fase logarítmica y estacionaria con los productos MicroScan.

1. **Técnica estándar de turbidez:** *método de inóculo principal*

*Surfactantes PLURONIC®, una marca comercial registrada de BASF Corporation, Parsippany, NJ, EE. UU.

**3M, St. Paul, MN (EE. UU.)

La técnica estándar de turbidez se recomienda para la inoculación directa de todos los cocos grampositivos aerobios.

- A. Usando un aplicador estéril, un hisopo o un asa bacteriológica, toque la superficie de 4–5 colonias grandes o 5–10 colonias pequeñas morfológicamente similares y bien aisladas de un cultivo de 18–24 horas en placa de agar no inhibitorio.
- B. Emulsione en 3 mL de agua para inóculo (agua desionizada esterilizada en autoclave). La turbidez final debería ser equivalente a la del patrón de turbidez McFarland 0,5. Puede conseguirse una turbidez equivalente utilizando un turbidímetro de MicroScan con un intervalo de $0,08 \pm 0,02$. Cerrar firmemente.
- C. Agite la suspensión en un vórtex durante 2-3 segundos.
- D. Pipetear 0,1 mL (100 μ L) de la suspensión estandarizada en 25 mL de agua para inóculo con PLURONIC. Tape bien. Invierta entre 8 y 10 veces para mezclar.

2. Sistema Prompt

El sistema Prompt puede utilizarse para cocos grampositivos de crecimiento más rápido. Consulte Prompt Inoculation Procedural Manual (Manual de procedimiento de inoculación con Prompt) para utilizar el sistema Prompt de forma adecuada.

Nota: utilizar con precaución. Es posible que la inoculación sea insuficiente en el caso de microorganismos de pequeño tamaño. Una inoculación insuficiente puede hacer que los resultados de la prueba de identificación sean incorrectos.

Rehidratación e inoculación del panel

La rehidratación e inoculación se realiza con el sistema RENOK con Inoculators-D (B1013-4). Consultar RENOK Operator's Manual (Manual del operador de RENOK). Si se utiliza otro sistema, rehidratar con 115 + 10 μ L de agua para inóculo (PLURONIC). Se debe obtener una concentración final en el pocillo de $3-7 \times 10^5$ UFC/mL.

Para asegurar la viabilidad y pureza del microorganismo analizado, debe prepararse una placa de pureza extendiendo el inóculo en una placa de agar apropiada e incubando en las condiciones adecuadas. Si la placa de pureza presenta dos o más tipos de colonias, vuelva a aislar las colonias y repita la prueba.

Recubrimiento de pruebas bioquímicas

1. Con una botella cuentagotas, cubrir los pocillos ARG y URE con al menos 3 gotas de aceite mineral. (Estos pocillos aparecen subrayados en el panel.)
2. Los medios de los pocillos deben cubrirse completamente con aceite mineral, pero el aceite no debe desbordar los pocillos.

Nota: los instrumentos WalkAway *SI* y WalkAway *plus* (y los instrumentos WalkAway actualizados con la función de adición de aceite automatizada) añaden automáticamente aceite a los pocillos adecuados.

Incubación

1. Los paneles se pueden incubar en un sistema WalkAway o fuera del instrumento llevando a cabo los siguientes pasos:
 - A. Para tener garantizada una distribución térmica uniforme durante la incubación, apile los paneles en grupos de 3-5.
 - B. Coloque un panel cubridor limpio sobre cada grupo de paneles para impedir la evaporación. Los paneles cubridores pueden volver a utilizarse. No descontamine los paneles cubridores con alcohol. Se pueden limpiar con agua y jabón. Enjuague bien y deje secar al aire.
 - C. Incubar los paneles durante 16-20 horas a 35 °C en un incubador sin CO₂.

Lectura de los paneles

Los paneles se pueden leer manualmente a través del Visor de microdilución MicroScan y se pueden registrar los resultados en una hoja de trabajo para paneles manuales (consulte la sección Materiales necesarios pero no suministrados de este manual de procedimiento) o en los instrumentos MicroScan (sistemas touchSCAN-SR, autoSCAN-4 y WalkAway). Consulte el manual del usuario adecuado para la lectura de paneles con instrumentos MicroScan.

1. Después de 16-20 horas de incubación, retire los paneles del incubador.
2. Limpie el fondo del panel con un paño que no deje pelusa para eliminar cualquier tipo de condensación o suciedad que pudiera estar presente.
3. Leer los paneles solo si el pocillo de control es transparente y el pocillo de control de crecimiento está turbio. La turbidez puede presentarse a modo de neblina blanca en todo el pocillo, un botón blanco en el centro del pocillo o un crecimiento granular fino en todo el pocillo. Un crecimiento inadecuado se define como una ligera blancura en el pocillo o una transparencia del caldo.
4. Si los resultados se leen manualmente, registrar los resultados en la hoja de trabajo adecuada.
5. Lectura de sustratos de identificación
 - A. Lea todos los sustratos de identificación con un fondo blanco, excepto CV, MS, NOV, OPT, NACL y BAC, que se deben leer en contraste con un fondo negro (con iluminación indirecta).

- B. Los resultados de IDX y PHO se registran tras 16-20 horas de incubación.
- C. Los paneles con PGT negativa y menos de 3 carbohidratos positivos se deben volver a incubar durante 24 horas más, antes de la lectura e identificación finales.
- D. Transcurridas 16-20 horas, solo se deben añadir reactivos a los paneles con 3 carbohidratos o una reacción PGT positiva. Después de 40-44 horas, añadir reactivos independientemente del número de pruebas positivas.
- E. Antes de añadir los reactivos, registre todas las reacciones positivas.
- F. Añadir reactivos de la siguiente forma:
- Añada 1 gota de hidróxido de potasio al 40 % (KOH) y 1 gota de alfa-naftol al 5 % al pocillo de VP. Antes de realizar la lectura, esperar al menos 20 minutos hasta que se produzca la reacción de VP.
 - Añada 1 gota de ácido sulfanílico al 0,8 % y otra de N,N-dimetil-alfa-naftilamina al 0,5 % al pocillo de NIT. Antes de realizar la lectura, esperar al menos 5 minutos hasta que se produzca la reacción de NIT.
 - Añada 2 gotas de reactivo de peptidasa al pocillo de PYR. Espere 2 minutos antes de realizar la lectura.
- G. Consulte la sección RESULTADOS para obtener ayuda sobre la interpretación bioquímica.

RESULTADOS

1. Interpretaciones bioquímicas

Pocillo	Reactivo	Positivo	Negativo
CV MS NOV OPT NACL BAC		Crecimiento	Sin crecimiento
NIT	Añada 1 gota de ácido sulfanílico al 0,8 % y 1 gota de N,N-dimetil-alfa-naftilamina al 0,5 %. Esperar 5 minutos hasta que se produzca la reacción.	De rosa a rojo	Transparente (incoloro); puede ser rosa muy claro
PGR PHO PGT	Cualquier tonalidad de amarillo debe interpretarse como positivo. Utilizar el pocillo NOV como control negativo.	Amarillo	Transparente (incoloro)
IDX		De azul a gris/precipitado	Transparente (incoloro) o precipitado blanco
VP	Añadir 1 gota de KOH al 40 % y 1 gota de alfa naftol al 5 %. Esperar al menos 20 minutos hasta que se produzca la reacción.	De rosa a rojo	Transparente (incoloro) a marrón; puede ser turbio o rosa muy claro
BE		Marrón oscuro a negro	De transparente (incoloro) a marrón claro
PYR	Añadir 2 gotas de reactivo de peptidasa. Esperar 2 minutos a que se desarrolle la reacción.	Rojo/de naranja a rojo	De amarillo a naranja/rojo
ARG		Rosa/de naranja a rosa	De amarillo a naranja
URE		Rosa	De amarillo a naranja
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Cualquier tonalidad de naranja debe considerarse negativo.	Amarillo	De naranja a rojo
HEM		Beta	Alfa o gama
LOC	Solo para el reconocimiento de paneles en los sistemas autoSCAN-4 y WalkAway.		

Identificación de grampositivos deshidratados – CC ID simplificado ¹					
Microorganismo de CC	Número ATCC	Sustrato indicador clave	Resultado esperado	Resultado fuera de las especificaciones	Sustrato lábil
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Si

1. Los indicadores clave para el control de calidad se proporcionan para el CC simplificado según el documento M50-A de CLSI.¹⁰ Antes de implementar el programa de CC simplificado, consulte el documento M50-A para obtener detalles y verifique con las autoridades normativas y los grupos de inspección pertinentes para confirmar la aceptación.

2. Principios de las reacciones de identificación

Violeta cristal (CV): el crecimiento en presencia de bajas concentraciones de violeta cristal se utiliza para distinguir los estreptococos (positivos) de los estafilococos (en su mayoría negativos).

Detección de micrococos (MS): el crecimiento en presencia de bajas concentraciones de bacitracina (0,05 µg/mL) se utiliza para distinguir los estafilococos (positivos) de los micrococos (negativos).

Nitrato (NIT): la reducción de nitratos a nitritos se detecta por la formación de color rojo tras añadir ácido sulfanílico al 0,8 % y N, N-dimetil-alfa-naftilamina al 0,5 %. Los estreptococos son nitrato negativos mientras que los estafilococos son nitrato positivos.

Novobiocina (NOV): la resistencia a bajas concentraciones (1,6 µg/mL) de novobiocina es característica de algunos estafilococos.

Glicosidasas (PGR, PGT): la capacidad de un microorganismo para producir una enzima glicosidasa específica se detecta por la descomposición del complejo p-nitrofenil-carbohidrato, liberando p-nitrofenol, que es de color amarillo.

Indoxil fosfatasa (IDX): la hidrólisis del indoxil fosfato por la enzima indoxil fosfatasa da lugar a un compuesto azul insoluble. La mayoría de los estafilococos coagulasa y DNasa positivos son IDX positivos.

Voges-Proskauer (VP): el acetilmetilcarbinol, producido a partir de la glucosa, reacciona con hidróxido potásico al 40 % y alfa-naftol al 5 % formando un color rojo.

Optoquina (OPT): la sensibilidad a la optoquina es característica del *Streptococcus pneumoniae*. Los demás estreptococos y estafilococos no se inhiben por la optoquina.

Fosfatasa (PHO): la fosfatasa alcalina descompone el fosfato p-nitrofenil en fosfato inorgánico y p-nitrofenol, que es de color amarillo.

Bilis esculina (BE): los microorganismos capaces de crecer en bilis al 40 % y de hidrolizar la esculina se detectan por la producción de un precipitado negro resultante de la reacción de la esculina del producto hidrolítico con el citrato férrico. Los estreptococos grupo D, algunos estreptococos viridans y algunos estafilococos son BE positivos.

Pirrolidonil-β-naftilamida (PYR): los microorganismos que producen pirrolidonilasa descomponen la L-pirrolidonil-β-naftilamida en L-pirrolidonil y β-naftilamina, que se combina con el reactivo de peptidasa (p-dimetil-aminocinamaldehído) para producir un color rojo.

Arginina (ARG): la deshidrolización de la arginina da lugar a la alcalinización del medio, que se detecta por un cambio de color de amarillo a rojo en el indicador rojo de fenol.

Urea (URE): la enzima ureasa descompone la urea formando amoníaco. El indicador rojo de fenol detecta el aumento de pH resultante.

Carbohidratos (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): la fermentación de un carbohidrato específico produce la formación de ácido. El indicador rojo de fenol detecta la consecuente disminución de pH, cambiando a color amarillo.

6,5 % de NaCl (NACL): la tolerancia a un 6,5% de cloruro sódico se demuestra con el crecimiento. La tolerancia a la sal permite diferenciar los enterococos de los no enterococos.

Bacitracina (BAC): la ausencia de crecimiento indica sensibilidad a bajas concentraciones de bacitracina, que es característica del *Streptococcus pyogenes*.

Piruvato (PRV): la utilización de piruvato da lugar a la formación de ácido. El indicador rojo de fenol detecta la consecuente disminución de pH, cambiando a color amarillo.

Hemólisis (HEM): las estreptolisinas S y O, producidas por el estreptococo, causan una lisis completa o parcial de los eritrocitos en agar con sangre ovina.

3. Identificación de microorganismos

El MicroScan Biotype Lookup Program para grampositivos deshidratados se utiliza para identificar los microorganismos de análisis desconocidos. Este programa se ha generado a partir de la propia base de datos de MicroScan. El Lookup Program para grampositivos proporciona análisis informático de 27 pruebas para *Streptococcaceae* y 18 pruebas para *Micrococcaceae*. Estas pruebas se traducen en un número de biotipo de 9 o 6 dígitos respectivamente. Consulte el programa para conocer el método de registro de resultados. El programa enumera la identificación de los microorganismos y las probabilidades relativas. Todas las posibilidades se listan en orden de mayor a menor probabilidad, hasta un total acumulado del 99,9 %. El programa está dividido en dos secciones: *Micrococcaceae* y *Streptococcaceae*.

Si alguno de los biotipos resulta ser un "Very Rare Biotype" (Biotipo muy raro), consulte el software LabPro [Utilities (Utilidades)>System (Sistema)>Biotype Lookup (Biotipo Lookup)] o el servicio Biotype Lookup del sitio web de Beckman Coulter, o póngase en contacto con su distribuidor local.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El documento M7-A7 de CLSI recomienda suplementar el caldo Mueller Hinton con sangre lisada de caballo al analizar estreptococos exigentes. El procedimiento del panel deshidratado para la identificación de grampositivos de MicroScan

difiere de esta recomendación. Si hay un crecimiento inadecuado en el pocillo de crecimiento, los resultados bioquímicos no son válidos y deberá utilizarse otro método.

2. Bacterias anaerobias: el panel de identificación no es adecuado para el análisis cocos grampositivos anaerobios.
3. Es probable que sea necesario realizar pruebas adicionales para determinar la identificación final cuando se obtiene una identificación de baja probabilidad (<85 %) (consulte el MicroScan Biotype Lookup Program para microorganismos grampositivos aerobios o el Microbiology Manual (Manual de microbiología)).
4. La interpretación de los resultados del análisis requiere personal clínico capacitado que deberá utilizar el buen juicio, conocimientos y análisis confirmatorios adicionales en los casos en que se requiera, antes de aceptar la identificación de un microorganismo.
5. No deben usarse los números de biotipo para la identificación fenotípica de cepas aisladas de diversas muestras del mismo paciente.
6. Es posible diferenciar el *E. faecium* vancomicina-resistente del *E. gallinarum* comprobando la motilidad y la producción de pigmento. Para obtener más información, consulte la tabla de pruebas adicionales del Microbiology Manual (Manual de microbiología).

VALORES ESPERADOS

En el caso de obtener valores esperados con los sustratos bioquímicos, consulte la tabla de porcentajes del Microbiology Manual (Manual de microbiología).

CONTROL DE CALIDAD

La validez de los medios de identificación se debe comprobar analizando microorganismos con reacciones conocidas. Los resultados para los microorganismos de control recomendados por la ATCC (American Type Culture Collection) se muestran en la tabla siguiente.*

Tabla de control de calidad de sustratos para la identificación de gram positivos deshidratados

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	NA	NA
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	NA
NOV ²	-	NA	-	NA
PGR ²	-	-	-	NA
IDX	+	NA	NA	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	NA
PHO	+	NA	-	NA
BE	-	+	+	NA
PYR	NA	+	-	NA
ARG	+	+	-	NA
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	NA
MAN	+	+	+	-
LAC	+	NA	+	-
TRE	NA	+	+	-
MNS	NA	+	+	-
NACL	NA	+	-	NA
SOR	NA	+	-	NA
ARA ²	NA	-	-	NA
RBS	NA	+	-	NA
INU	NA	-	+	NA
RAF	NA	-	+	NA
BAC ²	NA	+	+	NA
PRV	NA	+	-	NA

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

2. Consulte la tabla de pruebas adicionales para ver otras reacciones positivas o negativas necesarias para cada reacción bioquímica.

3. Pueden ser necesarias 24 horas de incubación.

NA = No aplicable

NOTA: Los microorganismos de control de calidad se seleccionan para proporcionar reacciones positivas/negativas para todos los sustratos de identificación. Por esto, las identificaciones de microorganismos pueden diferir de las indicadas en el

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

gráfico de CC. La aceptabilidad del rendimiento del producto debe determinarse por la comparación de los resultados de las pruebas y no por la identificación.

Tabla de pruebas adicionales

Microorganismo	Sustrato	Resultado esperado
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Identificación

La eficacia de los paneles tipo 3 deshidratados para la identificación de grampositivos MicroScan se estableció utilizando el panel tipo 2 deshidratado para la identificación de grampositivos en un estudio realizado en diversos centros. Se analizaron cepas clínicas y cepas de referencia en el panel tipo 3 deshidratado de identificación y las metodologías convencionales para representar el tipo de población bacteriana esperada en un laboratorio clínico de rutina. Consulte en la Sección 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria (Paneles convencionales deshidratados: bacterias grampositivas aerobias) del MicroScan System Microbiology Information Manual (Manual de información de microbiología del sistema MicroScan) una lista completa de los microorganismos que contiene la base de datos.

Los resultados de *Micrococcaceae* del panel tipo 3 deshidratado de identificación de presentaba una coincidencia en el nivel de especies y de grupo del 97,5 % (157/161) de las cepas. Solo un 5,6 % (9/161) de las cepas requirió pruebas adicionales para confirmar una identificación de nivel de especies o de grupo de baja probabilidad.

Los resultados de *Streptococcaceae* del panel tipo 3 deshidratados para identificación de gram positivos presentaba una coincidencia del 91,3 % (230/252) en el nivel de especies y una coincidencia del 92,1 % (232/252) en el nivel de grupo. Solamente un 14,3 % (36/252) de los aislamientos requirió pruebas adicionales para confirmar una identificación de nivel de especies de baja probabilidad y un 4,4 % (11/252) para confirmar una identificación de nivel de grupo de baja probabilidad.

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
	Representante autorizado en la Comunidad Europea	Indica el representante autorizado en la Unión Europea.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.2

Lista de símbolos

Símbolo	Título del símbolo	Descripción del estándar	Estándar
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Manual de procedimento para ID de Gram-positivos 3)

REF B1017-221

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Para utilização com painéis desidratados de ID de Gram-positivos do tipo 3 MicroScan. Os painéis desidratados de ID de Gram-positivos do tipo 3 MicroScan foram concebidos para serem utilizados na determinação da identificação, ao nível da espécie, de cocos Gram-positivos facultativos e aeróbios de crescimento rápido, de alguns cocos Gram-positivos aeróbios fastidiosos e de *Listeria monocytogenes*. Consultar a secção Limitações do procedimento para a utilização com estreptococos fastidiosos.

SUMÁRIO E FUNDAMENTO

Os testes convencionais e cromogénicos modificados são utilizados para a identificação de *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* e *Listeria monocytogenes*. A identificação baseia-se na deteção de alterações do pH, utilização do substrato e no crescimento na presença de agentes antimicrobianos após 16–44 horas de incubação a 35 °C.^{1,2,3,4,5,6,7}

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Apenas para fins de diagnóstico *in vitro*.
2. Respeitar as técnicas de assepsia e as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos durante todos os procedimentos, dando especial atenção ao facto de os painéis inoculados conterem organismos potencialmente patogénicos.
3. Este material contém agentes infecciosos e deve ser eliminado conforme for adequado para resíduos com perigo biológico.
4. Os resultados deste teste devem sempre ser interpretados em conjunto com o histórico médico do paciente, estado clínico e outros dados de interesse.
5. O poço de crescimento e de OPT contém 0,005% de hemina bovina cristalina.

ARMAZENAMENTO

Os painéis de Gram-positivos desidratados têm de ser conservados a uma temperatura entre 2–25 °C.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso



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

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

A exposição prolongada a condições de armazenamento diferentes das recomendadas pode resultar na hidrólise dos substratos de identificação. Não utilizar depois do prazo de validade. Para obter assistência, contacte o seu representante ou distribuidor da Beckman Coulter.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Os espécimes apropriados devem ser colhidos, transportados e colocados em meios de isolamento primário, de acordo com os procedimentos recomendados no *Manual of Clinical Microbiology* (Manual de microbiologia clínica).⁸

MATERIAIS FORNECIDOS

ID Pos Tipo 3 (B1017-221)

Manual de procedimentos

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Padrão de turvação de 0,5 McFarland

N, N-Dimetil-alfa-naftilamina a 0,5%, 30 mL (B1010-45A) ou 250 mL (B1015-45)

Ácido sulfanílico a 0,8%, 30 mL (B1010-44A) ou 250 mL (B1015-44)

Pipeta de 100 µL com pontas esterilizadas descartáveis

Alfa-naftol a 5%, 30 mL (B1010-42A)

Hidróxido de potássio a 40%, 30 mL (B1010-43A) ou 250 mL (B1015-43)

Tabuleiros de cobertura (B1010-56B)

Equipamento geral de laboratório

Conjunto Inoculadores-D (B1013-4)

Água para inóculo, 3 mL (B1015-2)

Água para inóculo com PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Visualizador de microdiluição

Óleo mineral, 60 mL (B1010-40)

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

Sistema de inoculação Prompt® (B1026-10D)**

Organismos de controlo de qualidade (consultar a secção de CQ deste manual)

Reagente de peptidase, 30 mL (B1012-30B) ou 250 mL (B1015-30)

Kit doseador de reagente (B1013-12A)

Sistema de reidratação/inoculação RENOK (B1018-14) ou equivalente

Turbidímetro

Vortex

Etiquetas com código de barras (B1018-129)

Tampas de tabuleiro WalkAway (B1018-18)

PROCEDIMENTO

Preparação do painel

1. Retire os painéis a utilizar do local de armazenamento. **Os painéis não devem ser utilizados caso se verifique uma das seguintes condições.**
 - A. O dessecante está ausente ou quebrado.
 - B. Os poços do painel estão descolorados (por exemplo, PHO).
 - C. A integridade da embalagem está comprometida (não selada, perfurada ou rasgada).
2. Corte a bolsa para a abrir e retire o painel. Se estiver armazenado no frigorífico, retirar imediatamente o painel da bolsa de folha de alumínio. Permita que os painéis atinjam a temperatura ambiente antes da reidratação. Os painéis podem ser empilhados com um tabuleiro de cobertura colocado por cima dos mesmos. Todos os painéis abertos devem ser utilizados no mesmo dia ou então inutilizados.

ID Pos Tipo 3

Substratos de identificação	Abrev.	Substratos de identificação	Abrev.
Violeta cristal	CV	Ureia	URE
Rastreio de Micrococcus	MS	Manitol	MAN
Nitrato	NIT	Lactose	LAC
Novobiocina	NOV	Trealose	TRE
PNP-β-D-glucuronídeo	PGR	Manose	MNS
Fosfatase de indoxil	IDX	Cloreto de sódio a 6,5%	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbitol	SOR
Optoquina	OPT	Arabinose	ARA
Fosfatase	PHO	Ribose	RBS
Bile esculina a 40%	BE	Inulina	INU
L-pirrolidonil-β-naftilamida	PYR	Rafinose	RAF
Arginina	ARG	Bacitracina	BAC
PNP-β-D-galactopiranosido	PGT	Piruvato	PRV

Preparação do inóculo

O CLSI recomenda que examine periodicamente as densidades do inóculo mediante contagens de colónias. Consultar as recomendações para contagem de colónias na secção 10.3.1.3 do documento M7-A7 do CLSI. Os resultados esperados para *E. coli* ATCC 25922 devem ser aproximadamente 5×10^5 CFU/mL para as concentrações de teste finais.⁹ O utilizador deve prestar uma atenção especial à preparação do inóculo, sobretudo com métodos manuais que dependem de técnicas como o Sistema Prompt ou o inóculo preparado sem a ajuda de um dispositivo fotométrico.

Nota: as técnicas de fase logarítmicas e estacionárias não são suportadas com os produtos MicroScan.

1. Técnica padrão de turvação — Método de inóculo primário

A técnica padrão de turvação é recomendada para a inoculação direta de todos os cocos Gram-positivos aeróbios.

*Surfactantes PLURONIC®, uma marca comercial registada da BASF Corporation, Parsippany, NJ USA

**3M, St. Paul, MN USA

- A. Utilizando um bastonete aplicador, uma ansa ou uma cotonete esterilizados, tocar na superfície de 4–5 colónias grandes ou 5–10 colónias pequenas bem isoladas e morfologicamente semelhantes, contidas numa placa de gelose sem inibidores, incubadas durante 18–24 horas.
- B. Emulsione em 3 mL de água para inóculo (água desionizada autoclavada). A turvação final deve ser equivalente à de um padrão de turvação 0,5 McFarland. Pode ser atingida uma turvação equivalente através da utilização de um medidor de turvação MicroScan com um intervalo de $0,08 \pm 0,02$. Colocar uma tampa, de forma a ficar bem ajustada.
- C. Agitar a suspensão no vórtex durante 2–3 segundos.
- D. Pipete 0,1 mL (100 μ L) da suspensão padronizada em 25 mL de água para inóculo com PLURONIC. Colocar uma tampa de forma a ficar bem ajustada. Inverter 8–10 vezes para misturar.

2. Sistema Prompt

O Sistema Prompt pode ser utilizado para os cocos Gram-positivos de crescimento mais rápido. Consultar o Prompt Inoculation procedural manual (Manual de procedimento da inoculação Prompt) para obter instruções acerca da utilização correta do Sistema Prompt.

Nota: Utilizar com cuidado. A subinoculação pode ocorrer com organismos que não satisfazem o requisito de tamanho. A subinoculação pode causar resultados de teste de identificação incorreta.

Reidratação/inoculação do painel

A reidratação e a inoculação são efetuadas utilizando o sistema RENOK com Inoculators-D (B1013-4). Consultar as instruções de utilização no RENOK Operator's Manual (Manual do operador do RENOK). Se for utilizado um sistema alternativo, reidratar com 115 + 10 μ L de água para inóculo (PLURONIC). Deve ser atingida uma concentração final de $3-7 \times 10^5$ CFU/mL no poço.

Para assegurar a viabilidade e a pureza do organismo testado, deverá preparar-se uma placa de verificação de pureza por repicagem do inóculo numa placa de ágar adequada e incubar nas condições adequadas. Se estiverem presentes dois ou mais tipos de colónias na placa de verificação da pureza, voltar a isolar as colónias e repetir o teste.

Cobertura dos bioquímicos

1. Utilizando um frasco doseador, cobrir os poços ARG e URE com, pelo menos, 3 gotas de óleo mineral. (Estes poços estão sublinhados no painel.)
2. Os meios nos poços têm que estar completamente cobertos com óleo mineral, mas este não deve transbordar dos poços.

Nota: Os instrumentos WalkAway *SI* e WalkAway *plus* (e instrumentos WalkAway atualizados com a funcionalidade de adição automática de óleo) adicionam automaticamente óleo aos poços adequados.

Incubação

1. Os painéis podem ser incubados num sistema WalkAway ou incubados «offline» completando os passos seguintes:
 - A. Para assegurar uma distribuição térmica uniforme durante a incubação, empilhe os painéis em grupos de 3–5.
 - B. Colocar um tabuleiro de cobertura limpo por cima de cada grupo de painéis para evitar a evaporação. Os tabuleiros de cobertura podem ser reutilizados. Não descontamine os tabuleiros de cobertura com álcool. Estes podem ser lavados com água e sabão. Enxaguar bem e deixar secar ao ar.
 - C. Incubar os painéis durante 16–20 horas a 35 °C numa incubadora sem CO₂.

Leitura dos painéis

Os painéis podem ser lidos manualmente utilizando o visualizador de microdiluição MicroScan e os resultados registados numa Manual Panel Worksheet (Folha de trabalho para painel manual) (ver a secção Materiais necessários mas não fornecidos deste manual de procedimento) ou nos instrumentos MicroScan (sistemas touchSCAN-SR, autoSCAN-4 e WalkAway). Consultar o manual do utilizador adequado para fazer a leitura dos painéis com instrumentos MicroScan.

1. Após 16–20 horas de incubação, retirar os painéis da incubadora.
2. Limpar o fundo do painel com um pano sem pelos para remover qualquer condensação ou quaisquer detritos que possam estar presentes.
3. Efetuar a leitura dos painéis apenas se o poço de controlo estiver límpido e se o poço de controlo de crescimento apresentar turvação. A turvação pode tomar a forma de uma sombra branca em todo o poço, uma mancha circular branca no centro do poço ou um crescimento granular fino em todo o poço. O crescimento inadequado manifesta-se como uma ligeira cor esbranquiçada no poço ou um meio líquido límpido.
4. Se os resultados forem lidos manualmente, registar os resultados no formulário apropriado.
5. Leitura dos substratos de identificação
 - A. Ler todos os substratos de identificação com um fundo branco, exceto CV, MS, NOV, OPT, NACL e BAC, que devem ser lidos contra um fundo preto (com luz indireta).
 - B. Os resultados de IDX e PHO são registados após 16–20 horas de incubação.

- C. Os painéis com PGT negativo e menos de 3 hidratos de carbono positivos devem ser incubados de novo por um período adicional de 24 horas antes de uma leitura e identificação finais.
- D. Só se deve proceder à adição de reagentes ao fim de 16–20 horas nos painéis com 3 hidratos de carbono ou PGT de reação positiva. Passadas 40–44 horas, adicionar reagentes, independentemente do número de testes positivos.
- E. Antes da adição dos reagentes, registar todas as reações positivas.
- F. Adicionar reagentes conforme indicado de seguida:
- Adicionar 1 gota de hidróxido de potássio (KOH) a 40% e 1 gota de alfa-naftol a 5% ao poço VP. Aguardar pelo menos 20 minutos pelo desenvolvimento da reação VP antes da leitura.
 - Adicionar 1 gota de cada de ácido sulfanílico a 0,8% e de N,N-dimetil-alfa-naftilamina a 0,5% ao poço NIT. Aguardar pelo menos 5 minutos pelo desenvolvimento da reação NIT antes da leitura.
 - Adicionar 2 gotas de reagente peptidase ao poço PYR. Aguardar 2 minutos antes da leitura.
- G. Consultar a secção RESULTADOS para obter ajuda na interpretação bioquímica.

RESULTADOS

1. Interpretações bioquímicas

Poço	Reagente	Positivo	Negativo
CV MS NOV OPT NACL BAC		Crescimento	Ausência de crescimento
NIT	Adicionar 1 gota de ácido sulfanílico a 0,8% e 1 gota de N,N-Dimetil-alfa-naftilamina a 0,5%. Aguardar 5 minutos pelo desenvolvimento da reação.	Rosa a vermelho	Transparente (incolor) Pode ser rosa muito pálido
PGR PHO PGT	Qualquer tonalidade de amarelo deve ser interpretada como positiva. Utilizar o poço NOV como um controlo negativo.	Amarelo	Transparente (incolor)
IDX		Azul a cinzento/precipitado	Transparente (incolor) ou precipitado branco
VP	Adicionar 1 gota de KOH a 40% e 1 gota de alfa naftol a 5%. Aguardar, pelo menos, 20 minutos pelo desenvolvimento da reação.	Rosa a vermelho	Transparente (incolor) a castanho, pode ser turvo ou rosa muito pálido
BE		Castanho-escuro a preto	Transparente (incolor) a castanho claro
PYR	Adicionar 2 gotas de reagente peptidase. Aguardar 2 minutos pelo desenvolvimento da reação.	Vermelho/laranja a vermelho	Amarelo a laranja/vermelho
ARG		Rosa/laranja a rosa	Amarelo a laranja
URE		Cor-de-rosa	Amarelo a laranja
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Qualquer indício de laranja deve ser considerado negativo.	Amarelo	Laranja a vermelho
HEM		Beta	Alfa ou gama
LOC	Apenas para reconhecimento de painéis dos sistemas WalkAway e autoSCAN-4.		

Identificação de Gram-positivos desidratados — CQ de ID simplificado ¹					
Organismo de CQ	Número ATCC	Substrato indicador principal	Resultado esperado	Resultado fora da especificação	Substrato lábil
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Sim

1. Os indicadores principais de Controlo de Qualidade são fornecidos para CQ simplificado pelo documento M50-A da CLSI.¹⁰ Antes de implementar o programa de CQ simplificado, consultar o documento M50-A para obter mais informações e consultar as autoridades reguladoras e grupos de inspeção adequados para confirmar a aceitação.

2. Princípios das reações de identificação

Violeta de cristal (CV): O crescimento na presença de concentrações baixas de violeta de cristal é utilizado para distinguir os estreptococos (positivos) dos estafilococos (sobretudo negativos).

Triagem de Micrococcus (MS): O crescimento na presença de concentrações baixas de bacitracina (0,05 µg/mL) é utilizado para distinguir os estafilococos (positivos) dos micrococos (negativos).

Nitrato (NIT): A redução de nitrato para nitrito é detetada através da formação de uma cor vermelha após a adição de ácido sulfanílico a 0,8% e de N,N-dimetil-alfa-naftilamina a 0,5%. Os estreptococos são nitrato-negativos enquanto a maior parte dos estafilococos são nitrato-positivos.

Novobiocina (NOV): A resistência a concentrações baixas (1,6 µg/mL) de novobiocina é característica de alguns estafilococos.

Glicosidases (PGR, PGT): A capacidade de um organismo para produzir uma enzima glicosidase específica é detetada dividindo o complexo de p-nitrofenil-hidrato de carbono que liberta p-nitrofenol de cor amarela.

Fosfatase de indoxil (IDX): A hidrólise do fosfato de indoxil pela enzima fosfatase de indoxil resulta num composto azul insolúvel. A maior parte dos estafilococos coagulase e DNase positivos são IDX positivos.

Voges-Proskauer (VP): O acetilmetilcarbinol, produzido a partir da glicose, reage com hidróxido de potássio a 40% e alfa-naftol a 5% para formar uma cor vermelha.

Optoquina (OPT): A suscetibilidade à optoquina é característica de *Streptococcus pneumoniae*. Outros estreptococos e estafilococos não são inibidos pela optoquina.

Fosfatase (PHO): A fosfatase alcalina divide o fosfato p-nitrofenil em fosfato inorgânico e p-nitrofenol que é de cor amarela.

Bilis-esculina (BE): Os organismos capazes de crescer na bília a 40% e de hidrolisar a esculina são detetados através da produção de um precipitado preto resultante da reação do produto hidrolítico esculetina com citrato férrico. Os estreptococos de grupo D, alguns estreptococos viridans e alguns estafilococos são BE positivos.

Pirrolidonil-β-naftilamida (PYR): Os organismos que produzem pirrolidonase dividem a L-pirrolidonil-β-naftilamida em L-pirrolidona e β-naftilamina que combina com o reagente peptidase (p-dimetil-aminocinamaldeído) para produzir uma cor vermelha.

Arginina (ARG): A desidrolização da arginina resulta na alcalinização do meio, a qual é detetada por uma alteração da cor, que passa de amarelo para vermelho, no indicador vermelho de fenol.

Ureia (URE): a enzima urease divide a amónia formadora de ureia. O aumento de pH resultante é detetado pelo indicador vermelho de fenol.

Hidratos de carbono (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): A fermentação de um hidrato de carbono específico resulta na formação de ácido. A consequente descida do pH é detetada pelo indicador vermelho de fenol que passa a amarelo.

NaCl a 6,5% (NACL): O crescimento demonstra uma tolerância ao cloreto de sódio a 6,5%. A tolerância ao sal é empregue para distinguir os enterococos dos não-enterococos.

Bacitracina (BAC): A sensibilidade a concentrações baixas de bacitracina é indicada pela ausência de crescimento e é característica de *Streptococcus pyogenes*.

Piruvato (PRV): Utilização de resultados de piruvato na formação de ácido. A resultante descida do pH é detetada pelo indicador vermelho de fenol que passa a amarelo.

Hemólise (HEM): As estreptolisinas S e O, as quais são produzidas por estreptococos, provocam a lise completa ou parcial dos glóbulos vermelhos em ágar com sangue de carneiro.

3. Identificação do organismo

O Biotype Lookup Program da MicroScan para Gram-positivos desidratados é utilizado para a identificação de organismos de teste desconhecidos. Este programa foi gerado a partir da própria base de dados da MicroScan. O Biotype Lookup Program para Gram-positivos permite uma análise computadorizada de 27 testes para *Streptococcaceae* e 18 testes para *Micrococcaceae*. Estes testes traduzem-se num número de biótipo com 9 ou 6 dígitos, respetivamente. Consultar o programa para o método de registo dos resultados. Este programa regista a identificação do organismo e as probabilidades relativas. As possibilidades são listadas por ordem de maior probabilidade, até um total cumulativo de 99,9%. O programa divide-se em 2 secções: *Micrococcaceae* e *Streptococcaceae*.

Em caso de ocorrência de um biótipo que resulte num «Very Rare Biotype» (Biótipo muito raro), consultar o software LabPro [Utilities (Utilitários)>System (Sistema)>Biotype Lookup (Procurar biótipo)] ou o serviço Biotype Lookup no site da Beckman Coulter ou consultar o distribuidor local.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. O documento M7-A7 do CLSI recomenda a suplementação do caldo Mueller Hinton com sangue de cavalo lisado aquando do teste de estreptococos fastidiosos. O procedimento do painel de Gram-positivos desidratados MicroScan difere desta recomendação. No caso de crescimento inadequado no poço de crescimento, os resultados bioquímicos não são válidos e deve utilizar-se um método alternativo.
2. Bactérias anaeróbias — O painel de ID de positivos não é adequado para o teste de cocos Gram-positivos anaeróbios.

- Podem ser necessários testes adicionais para determinar a identificação final quando se obtém uma identificação de probabilidade baixa (<85%) (consultar o Biotype Lookup Program da MicroScan para organismos aeróbios Gram-positivos ou o Microbiology Manual [Manual de microbiologia]).
- 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.
- Os números de biótipos não devem ser usados para identificação fenotípica de estirpes isoladas a partir de várias amostras do mesmo paciente.
- O *E. faecium* resistente à vancomicina pode ser diferenciado do *E. gallinarum* através da verificação da motilidade e da produção de pigmento. Consultar a tabela de testes adicionais do Microbiology Manual (Manual de microbiologia) para obter mais informações.

VALORES ESPERADOS

Consultar os valores esperados com substratos bioquímicos no Percent Chart (Gráfico de percentagens) existente no Microbiology Manual (Manual de microbiologia).

CONTROLO DE QUALIDADE

A aceitabilidade dos meios de identificação deve ser verificada através do teste com organismos de reações conhecidas. Os resultados para os organismos de controlo da American Type Culture Collection (ATCC) recomendados estão indicados na tabela seguinte.*

Tabela de controlo de qualidade dos substratos de identificação de Gram-positivos desidratados

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	N/D	N/D
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	N/D
NOV ²	-	N/D	-	N/D
PGR ²	-	-	-	N/D
IDX	+	N/D	N/D	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	N/D
PHO	+	N/D	-	N/D
BE	-	+	+	N/D
PYR	N/D	+	-	N/D
ARG	+	+	-	N/D
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	N/D
MAN	+	+	+	-
LAC	+	N/D	+	-
TRE	N/D	+	+	-
MNS	N/D	+	+	-
NACL	N/D	+	-	N/D
SOR	N/D	+	-	N/D
ARA ²	N/D	-	-	N/D
RBS	N/D	+	-	N/D
INU	N/D	-	+	N/D
RAF	N/D	-	+	N/D
BAC ²	N/D	+	+	N/D
PRV	N/D	+	-	N/D

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Consultar a tabela de testes adicionais para reações positivas ou negativas adicionais, conforme necessário para cada produto bioquímico.

3. Pode ser necessária uma incubação de 24 horas.

N/D = não aplicável

NOTA: Os organismos de controlo de qualidade são selecionados para fornecer reações positivas/negativas para todos os substratos de identificação. Consequentemente, as identificações de organismos poderão ser diferentes do que é indicado no gráfico de CQ. A aceitabilidade do desempenho do produto deve ser determinada por comparação dos resultados dos testes, não pela identificação.

Tabela adicional de testes

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

Organismo	Substrato	Resultado esperado
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Identificação

As pretensões de desempenho do painel de Gram-positivos desidratados do tipo 3 MicroScan foram estabelecidas utilizando o painel de Gram-positivos desidratados do tipo 2 num estudo multicêntrico. Os isolamentos clínicos e as estirpes de «stock» foram testados no painel de ID de positivos desidratados de tipo 3 e metodologias em tubo convencionais para representar o tipo de população bacteriológica esperado na rotina de um laboratório clínico. Consultar o Microbiology Information Manual (Manual de informações microbiológicas) de sistemas MicroScan (Secção 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria [Painéis positivos desidratados convencionais: bactérias aeróbias Gram-positivas]) para obter uma lista completa dos organismos incluídos nesta base de dados.

Os resultados de *Micrococcaceae* do painel de ID de positivos desidratados de tipo 3 estiveram em concordância tanto com a espécie como com o nível de grupo, com 97,5% (157/161) dos isolamentos. Apenas 5,6% (9/161) dos isolamentos implicaram a realização de testes adicionais para confirmar a baixa probabilidade de identificação em termos de espécie ou nível de grupo.

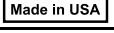
Os resultados de *Streptococcaceae* do painel de ID de positivos desidratados de tipo 3 estiveram em concordância com o nível de espécie com 91,3% (230/252) e com o nível de grupo com 92,1% (232/252). Apenas 14,3% (36/252) dos isolamentos implicaram a realização de testes adicionais para confirmar a baixa probabilidade de identificação da espécie e 4,4% (11/252) para confirmar a baixa probabilidade de identificação do nível de grupo.

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
	Representante autorizado na Comunidade Europeia	Indica o representante autorizado na Comunidade Europeia.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.2

Legenda dos símbolos			
Símbolo	Designação do símbolo	Descrição do padrão	Padrão
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Εγχειρίδιο διαδικασιών ταυτοποίησης Gram-θετικών οργανισμών τύπου 3)

REF B1017-221

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Για χρήση με αποξηραμένες πλάκες ταυτοποίησης Gram-θετικών οργανισμών τύπου 3 της MicroScan. Οι αποξηραμένες πλάκες ταυτοποίησης Gram-θετικών οργανισμών τύπου 3 της MicroScan είναι σχεδιασμένες για χρήση στην ταυτοποίηση, σε επίπεδο είδους, των ταχέως αναπτυσσόμενων αερόβιων και προαιρετικών Gram-θετικών κόκκων, ορισμένων Gram-θετικών κόκκων με σύνθετες θρεπτικές ανάγκες και του *Listeria monocytogenes*. Ανατρέξτε στην ενότητα «Περιορισμοί της διαδικασίας» για χρήση με στρεπτόκοκκους με σύνθετες θρεπτικές ανάγκες.

ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΑΡΧΗ

Για την ταυτοποίηση των οικογενειών *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* και *Listeria monocytogenes* χρησιμοποιούνται τροποποιημένες συμβατικές και χρωμογονικές εξετάσεις. Η ταυτοποίηση βασίζεται στην ανίχνευση μεταβολών του pH, τη χρήση υποστρωμάτων και την ανάπτυξη παρουσία αντιμικροβιακών παραγόντων μετά από 16–44 ώρες επώασης σε θερμοκρασία 35 °C.^{1,2,3,4,5,6,7}

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
2. Πρέπει να εφαρμόζονται άσηπτες τεχνικές και οι καθιερωμένες προφυλάξεις έναντι των μικροβιολογικών κινδύνων σε όλες τις διαδικασίες, λαμβάνοντας ιδιαίτερα υπόψη ότι οι ενοφθαλμισμένες πλάκες περιέχουν δυνητικώς παθογόνους οργανισμούς.
3. Το συγκεκριμένο υλικό περιέχει λοιμογόνους παράγοντες και πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τις διαδικασίες που προβλέπονται για τα βιολογικά επικίνδυνα απόβλητα.
4. Τα αποτελέσματα αυτής της εξέτασης θα πρέπει πάντα να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με το ιατρικό ιστορικό του ασθενούς, την κλινική εμφάνιση και τα άλλα ευρήματα.
5. Το βοθρίο ανάπτυξης και OPT περιέχει 0,005% βόεια κρυσταλλική αιμίνη.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Οι αποξηραμένες πλάκες Gram-θετικών οργανισμών πρέπει να φυλάσσονται στους 2–25 °C.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΠΕΣ

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

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

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Η παρατεταμένη έκθεση σε συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από τις συνιστώμενες μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την υδρόλυση των υποστρωμάτων ταυτοποίησης. Να μη χρησιμοποιούνται μετά την παρέλευση της ημερομηνίας λήξης. Για περαιτέρω βοήθεια, επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο ή τον διανομέα της Beckman Coulter.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Κατάλληλα δείγματα θα πρέπει να συλλέγονται, να μεταφέρονται και να τοποθετούνται σε θρεπτικά υλικά για αρχική απομόνωση, σύμφωνα με διαδικασίες που συνιστώνται στο *Manual of Clinical Microbiology* (Εγχειρίδιο Κλινικής Μικροβιολογίας).⁸

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Ταυτοποίηση θετικών τύπου 3 (B1017-221)

Εγχειρίδιο διαδικασιών

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Πρότυπο θολερότητας 0,5 της κλίμακας McFarland

N, N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνη 0,5%, 30 mL (B1010-45A) ή 250 mL (B1015-45)

Σουλφανλικό οξύ 0,8%, 30 mL (B1010-44A) ή 250 mL (B1015-44)

Πιπέτα των 100 µL με αποστειρωμένα ρύγχη μίας χρήσης

A-ναφθόλη 5%, 30 mL (B1010-42A)

Υδροξείδιο του καλίου 40%, 30 mL (B1010-43A) ή 250 mL (B1015-43)

Καλυπτρίδες (B1010-56B)

Γενικός εργαστηριακός εξοπλισμός

Σετ Inoculator-D (B1013-4)

Ύδωρ ενοφθαλμισμού, 3 mL (B1015-2)

Ύδωρ ενοφθαλμισμού με PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Σύστημα παρακολούθησης μικροαραίωσης

Παραφινέλαιο, 60 mL (B1010-40)

Παραφινέλαιο, 250 mL (B1010-40A) – MONO για χρήση με τα όργανα WalkAway SI και WalkAway plus (καθώς και με τα όργανα WalkAway που έχουν αναβαθμιστεί με τη δυνατότητα αυτοματοποιημένης επίστρωσης ελαίου)

Σύστημα ενοφθαλμισμού Prompt® (B1026-10D)**

Οργανισμοί ποιοτικού ελέγχου (Ανατρέξτε στην ενότητα ΠΕ του παρόντος εγχειριδίου)

Αντιδραστήριο πεπτιδάσης, 30 mL (B1012-30B) ή 250 mL (B1015-30)

Κιτ σταγονόμετρου αντιδραστηρίου (B1013-12A)

Σύστημα ενυδάτωσης/ενοφθαλμισμού RENOK (B1018-14) ή ισοδύναμο

Θολοσίμετρο

Περιδίνηση

Χαρτί ετικετών γραμμωτού κώδικα (B1018-129)

Κατάκια δίσκων WalkAway (B1018-18)

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρασκευή των πλακών

1. Αφαιρέστε τις πλάκες που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν από τον χώρο φύλαξης. **Οι πλάκες δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται εάν συντρέχει οποιαδήποτε από τις ακόλουθες καταστάσεις.**
 - A. Δεν υπάρχει αποξηραντικός παράγοντας ή έχει καταστραφεί.
 - B. Τα βοηθία της πλάκας είναι αποχρωματισμένα (π.χ. PHO).
 - C. Έχει αλλοιωθεί η ακεραιότητα της συσκευασίας (έχει αποσφραγιστεί, τρυπηθεί ή σχιστεί).
2. Κόψτε τη συσκευασία για να την ανοίξετε και αφαιρέστε την πλάκα. Εάν η πλάκα φυλάσσεται στο ψυγείο, αφαιρέστε την αμέσως από τη συσκευασία από αλουμινοφύλλο. Αφήστε τις πλάκες να εγκλιματιστούν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την επανενυδάτωση. Οι πλάκες μπορούν να στοιβαχτούν εάν τοποθετηθεί επάνω τους μια καθαρή καλυπτρίδα. Όλες οι πλάκες που έχουν ανοιχτεί θα πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός της ίδιας ημέρας ή να απορρίπτονται.

Ταυτοποίηση θετικών οργανισμών τύπου 3

Υποστρώματα ταυτοποίησης	Συντμ.	Υποστρώματα ταυτοποίησης	Συντμ.
Κρυσταλλικό ιώδες	CV	Ουρία	URE
Έλεγχος μικρόκοκκων	MS	Μαννιτόλη	MAN
Νιτρικό	NIT	Λακτόζη	LAC
Νοβοβιοκίνη	NOV	Τρεχαλόζη	TRE
PNP-β-D-γλυκουρονίδιο	PGR	Μαννόζη	MNS
Φωσφατάση ινδοξυλίου	IDX	Χλωριούχο νάτριο 6,5%	NACL
Voges-Proskauer	VP	Σορβιτόλη	SOR
Οπτοχίνη	OPT	Αραβινόζη	ARA
Φωσφατάση	PHO	ΡΙβόζη	RBS
Χολή 40% και εσκούλίνη	BE	Ινουλίνη	INU
L-πυρρολιδονυλ-β-ναφθυλαμίδη	PYR	Ραφινόζη	RAF
Αργινίνη	ARG	Βακιτρακίνη	BAC
PNP-β-D-γαλακτοπυρανοσίδη	PGT	Πυροσταφυλικό	PRV

Παρασκευή του ενοφθαλμίσματος

Το Ινστιτούτο Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI) συνιστά τον περιοδικό έλεγχο των πυκνοτήτων των ενοφθαλμισμάτων σας με εκτέλεση καταμέτρησης αποικιών. Ανατρέξτε στο έγγραφο M7-A7 παράγραφος 10.3.1.3 του CLSI για συστάσεις σχετικά με τη μέτρηση αποικιών. Τα αναμενόμενα αποτελέσματα για το *E. coli* ATCC 25922 θα πρέπει να προσεγγίζουν την τιμή 5×10^5 CFU/mL για τις τελικές συγκεντρώσεις εξέτασης.⁹ Ο χρήσης θα πρέπει να είναι πολύ προσεκτικός κατά την παρασκευή του ενοφθαλμίσματος, ειδικά με μη αυτόματες μεθόδους οι οποίες εξαρτώνται από την τεχνική, όπως στην περίπτωση του συστήματος Prompt ή ενοφθαλμίσματος που παρασκευάζεται χωρίς τη χρήση φωτομετρικής συσκευής.

*Επιφανειοδραστικοί παράγοντες PLURONIC®, σήμα κατατεθέν της BASF Corporation, Parsippany, NJ ΗΠΑ

**3M, St. Paul, MN ΗΠΑ

Σημείωση: Οι τεχνικές λογαριθμικής φάσης και φάσης στασιμότητας δεν υποστηρίζονται με τα προϊόντα MicroScan.

1. Τεχνική προτύπου θολερότητας - Μέθοδος πρωτογενούς ενοφθαλμισμού

Η τεχνική προτύπου θολερότητας συνιστάται για τον άμεσο ενοφθαλμισμό όλων των αερόβιων Gram-θετικών κόκκων.

- Με χρήση ενός στείρου κρικοφόρου ή βαμβακοφόρου σπειρού, αγγίξτε την επιφάνεια 4–5 μεγάλων ή 5–10 μικρών, μορφολογικά παρόμοιων, καλά απομονωμένων αποικιών από ένα τρυβλίο με μη ανασταλτικό άγαρ 18–24 ωρών.
- Γαλακτωματοποιήστε σε 3 mL ύδατος ενοφθαλμισμού (απιονισμένο νερό, αποστειρωμένο σε αυτόκαυστο). Η τελική θολερότητα πρέπει να είναι ισοδύναμη με εκείνη ενός προτύπου θολερότητας McFarland 0,5. Ισοδύναμη θολερότητα μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση θολοσίμετρου MicroScan, με εύρος τιμών $0,08 \pm 0,02$. Πωματίστε ερμητικά.
- Περιδινήστε το εναιώρημα για 2–3 δευτερόλεπτα.
- Εισαγάγετε με πιπέτα 0,1 mL (100 μ L) του τυποποιημένου εναιωρήματος σε 25 mL ύδατος ενοφθαλμισμού με PLURONIC. Πωματίστε ερμητικά. Αναστρέψτε 8–10 φορές για να αναμίξετε το περιεχόμενο.

2. Σύστημα Prompt

Το σύστημα Prompt μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τους πιο ταχέως αναπτυσσόμενους Gram-θετικούς κόκκους. Για τη σωστή χρήση του, ανατρέξτε στο Prompt Inoculation Procedural Manual (Εγχειρίδιο της διαδικασίας ενοφθαλμισμού του συστήματος Prompt).

Σημείωση: Χρησιμοποιείτε με προσοχή. Με τους οργανισμούς που δεν πληρούν την απαίτηση μεγέθους, ενδέχεται να προκληθεί υπο-ενοφθαλμισμός. Ο υπο-ενοφθαλμισμός θα μπορούσε να προκαλέσει εσφαλμένα αποτελέσματα στην εξέταση ταυτοποίησης.

Επανεனுδάτωση/ενοφθαλμισμός των πλακών

Η επανεனுδάτωση και ο ενοφθαλμισμός εκτελούνται χρησιμοποιώντας το σύστημα RENOK με Inoculators-D (B1013-4). Ανατρέξτε στο RENOK Operator's Manual for use (Εγχειρίδιο χειρισμού του συστήματος RENOK). Εάν χρησιμοποιείτε κάποιο εναλλακτικό σύστημα, επανεனுδατώστε με 115 + 10 μ L ύδατος ενοφθαλμισμού (PLURONIC). Στα βοηθία πρέπει να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση $3-7 \times 10^5$ CFU/mL.

Για να διασφαλίσετε τη βιωσιμότητα και την καθαρότητα του οργανισμού που εξετάζεται, θα πρέπει να παρασκευάσετε ένα τρυβλίο καθαρότητας επιστρώνοντας το ενοφθαλμισμό σε κατάλληλο τρυβλίο με άγαρ και επωάζοντάς το υπό κατάλληλες συνθήκες. Εάν υπάρχουν δύο ή περισσότεροι τύποι αποικιών στο τρυβλίο καθαρότητας, απομονώστε εκ νέου τις αποικίες και επανεκτελέστε την εξέταση.

Βιοχημικές επιστρώσεις

- Χρησιμοποιώντας μια φιάλη σταγονόμετρου, επιστρώστε τα βοηθία ARG και URE με τουλάχιστον 3 σταγόνες παραφινέλαιου. (Τα βοηθία αυτά είναι υπογραμμισμένα στην πλάκα.)
- Τα μέσα στα βοηθία πρέπει να καλύπτονται πλήρως με παραφινέλαιο, το οποίο όμως δεν θα πρέπει να υπερχειλίζει τα βοηθία.

Σημείωση: Τα όργανα WalkAway S/ και WalkAway plus (καθώς και τα όργανα WalkAway που έχουν αναβαθμιστεί με τη δυνατότητα αυτοματοποιημένης επίστρωσης ελαίου) προσθέτουν αυτόματα έλαιο στα κατάλληλα βοηθία.

Επώαση

- Οι πλάκες μπορούν να επωαστούν σε σύστημα WalkAway ή να επωαστούν εκτός αναλυτή, με χρήση των παρακάτω βημάτων:
 - Για να διασφαλιστεί ομοιόμορφη κατανομή θερμότητας κατά τη διάρκεια της επώασης, στοιβάξτε τις πλάκες σε ομάδες των 3–5.
 - Τοποθετήστε μια καθαρή καλυπτρίδα πάνω σε κάθε ομάδα πλακών για να αποτραπεί η εξάτμιση. Οι καλυπτρίδες μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν. Μην απολυμαίνετε τις καλυπτρίδες με αλκοόλη. Μπορείτε να τις καθαρίσετε με σαπούνι και νερό. Εκπλύνετε καλά και αφήστε τις να στεγνώσουν φυσικά.
 - Αφήστε τις πλάκες να επωαστούν για 16–20 ώρες στους 35 °C, σε μονάδα επώασης που λειτουργεί χωρίς CO₂.

Ανάγνωση των πλακών

Οι πλάκες μπορούν να διαβαστούν μη αυτόματα, χρησιμοποιώντας το σύστημα παρακολούθησης μικροαραίωσης MicroScan, και τα αποτελέσματα να καταγραφούν σε ένα Manual Panel Worksheet (Φύλλο εργασίας για μη αυτόματη ανάγνωση πλακών) (ανατρέξτε στην ενότητα «Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται» στο παρόν εγχειρίδιο διαδικασιών) ή στο σύστημα οργάνων MicroScan (συστήματα touchSCAN-SR, autoSCAN-4 και WalkAway). Ανατρέξτε στο κατάλληλο εγχειρίδιο χειρισμού για ανάγνωση των πλακών με το σύστημα οργάνων MicroScan.

- Μετά από 16–20 ώρες επώασης, αφαιρέστε τις πλάκες από τη μονάδα επώασης.
- Σκουπίστε τον πυθμένα της πλάκας με ένα ύφασμα που δεν αφήνει χνούδι, για να αφαιρέσετε τυχόν προϊόντα συμπύκνωσης υδρατμών ή υπολείμματα που ενδέχεται να υπάρχουν.
- Η ανάγνωση των πλακών γίνεται μόνο εάν το βοηθίο μάρτυρα είναι διαυγές και το βοηθίο μάρτυρα ανάπτυξης είναι θολερό. Η θολερότητα μπορεί να λάβει τη μορφή λευκής θόλωσης σε ολόκληρο το βοηθίο, λευκού «κομβίου» στο

κέντρο του βοθρίου ή λεπτής κοκκώδους ανάπτυξης σε ολόκληρο το βοθρίο. Ως ανεπαρκής ανάπτυξη ορίζεται η ελαφρά λευκότητα στην υποδοχή ή η διαύγεια του ζυμού.

4. Εάν πραγματοποιείται μη αυτόματη ανάγνωση των αποτελεσμάτων, καταγράψτε τα αποτελέσματα στο κατάλληλο φύλλο εργασίας.
5. Ανάγνωση υποστρωμάτων ταυτοποίησης
 - A. Η ανάγνωση όλων των υποστρωμάτων ταυτοποίησης πρέπει να γίνεται σε λευκό υπόβαθρο εκτός από τα CV, MS, NOV, OPT, NACL και BAC, η ανάγνωση των οποίων πρέπει να γίνεται έναντι μαύρου (έμμεσα φωτισμένου) υποβάθρου.
 - B. Τα αποτελέσματα IDX και PHO καταγράφονται μετά από 16–20 ώρες επώασης.
 - C. Πλάκες με αρνητικό PGT και λιγότερους από 3 θετικούς υδατάνθρακες πρέπει να επωάζονται εκ νέου για επιπλέον 24 ώρες πριν από την εκτέλεση της τελευταίας ανάγνωσης και ταυτοποίησης.
 - D. Μόνο σε πλάκες που διαθέτουν 3 υδατάνθρακες ή θετική αντίδραση PGT πρέπει να προστίθενται αντιδραστήρια σε 16–20 ώρες. Σε 40–44 ώρες, προσθέστε αντιδραστήρια ανεξάρτητα από τον αριθμό των θετικών εξετάσεων.
 - E. Πριν προσθέσετε τα αντιδραστήρια, καταγράψτε όλες τις θετικές αντιδράσεις.
 - F. Προσθέστε τα αντιδραστήρια ως εξής:
 - a. Προσθέστε 1 σταγόνα υδροξειδίου του καλίου (KOH) 40% και 1 σταγόνα α-ναφθόλης 5% στο βοθρίο VP. Πριν από την ανάγνωση, περιμένετε τουλάχιστον 20 λεπτά για να αναπτυχθεί η αντίδραση VP.
 - b. Προσθέστε 1 σταγόνα σουλφανλικού οξέος 0,8% και N,N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνης 0,5% στο βοθρίο NIT. Πριν από την ανάγνωση, περιμένετε τουλάχιστον 5 λεπτά για να αναπτυχθεί η αντίδραση NIT.
 - c. Προσθέστε 2 σταγόνες αντιδραστήριου πεπτιδάσης στο βοθρίο PYR. Περιμένετε 2 λεπτά πριν από την ανάγνωση.
 - G. Ανατρέξτε στην ενότητα ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ για βοήθεια στη βιοχημική ερμηνεία.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Βιοχημικές ερμηνείες

Βοθρίο	Αντιδραστήριο	Θετικό	Αρνητικό
CV MS NOV OPT NACL BAC		Ανάπτυξη	Απουσία ανάπτυξης
NIT	Προσθέστε 1 σταγόνα σουλφανλικού οξέος 0,8% και 1 σταγόνα N,N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνης 0,5%. Περιμένετε 5 λεπτά για να αναπτυχθεί η αντίδραση.	Ροζ προς κόκκινο	Διαυγές (άχρωμο), μπορεί να έχει ένα πολύ απαλό ροζ χρώμα.
PGR PHO PGT	Οποιαδήποτε απόχρωση του κίτρινου θα πρέπει να ερμηνευτεί ως θετική. Να χρησιμοποιείτε το βοθρίο NOV ως αρνητικό μάρτυρα.	Κίτρινο	Διαυγές (άχρωμο)
IDX		Μπλε προς γκρι/ίζημα	Διαυγές (άχρωμο) ή λευκό ίζημα
VP	Προσθέστε 1 σταγόνα KOH 40% και 1 σταγόνα α-ναφθόλη 5%. Περιμένετε τουλάχιστον 20 λεπτά για να αναπτυχθεί η αντίδραση.	Ροζ προς κόκκινο	Διαυγές (άχρωμο) προς καφέ, μπορεί να είναι θολό ή πολύ απαλό ροζ
BE		Σκούρο καφέ προς μαύρο	Διαυγές (άχρωμο) προς ανοιχτό καφέ
PYR	Προσθέστε 2 σταγόνες αντιδραστήριου πεπτιδάσης. Περιμένετε 2 λεπτά για να αναπτυχθεί η αντίδραση.	Κόκκινο/Πορτοκαλί προς κόκκινο	Κίτρινο προς πορτοκαλί/κόκκινο
ARG		Ροζ/Πορτοκαλί προς ροζ	Κίτρινο προς πορτοκαλί
URE		Ροζ	Κίτρινο προς πορτοκαλί
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Οποιαδήποτε απόχρωση του πορτοκαλί θα πρέπει να θεωρηθεί αρνητική.	Κίτρινο	Πορτοκαλί προς κόκκινο

Βοθρίο	Αντιδραστήριο	Θετικό	Αρνητικό
HEM		β	Άλφα ή Γάμμα
LOC	Για αναγνώριση πλακών μόνο με τα συστήματα autoSCAN-4 και WalkAway.		

Ταυτοποίηση αποξηραμένων Gram-θετικών - Βελτιστοποιημένος ΠΕ ταυτοποίησης ¹					
Οργανισμός ΠΕ	Αριθ. ATCC	Βασικό Υπόστρωμα-Δείκτης	Αναμενόμενο αποτέλεσμα	Αποτέλεσμα εκτός προδιαγραφών	Ασταθές υπόστρωμα
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	—	+	NAI

1. Οι βασικοί δείκτες για τον ποιοτικό έλεγχο καθορίζονται για τον βελτιστοποιημένο ΠΕ στο έγγραφο M50-A του Ινστιτούτου Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI).¹⁰ Πριν από την εφαρμογή του προγράμματος βελτιστοποιημένου ΠΕ, ανατρέξτε για αναλυτικές πληροφορίες στο έγγραφο M50-A. Για την επιβεβαίωση της αποδοχής, απευθυνθείτε στους αρμόδιους ρυθμιστικούς φορείς και τις αρμόδιες ομάδες επιθεώρησης.

2. Αρχές αντιδράσεων ταυτοποίησης

Κρυσταλλικό ιώδες (CV): Η ανάπτυξη παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων κρυσταλλικού ιώδους χρησιμοποιείται για τη διάκριση των στρεπτόκοκκων (θετικοί) από τους σταφυλόκοκκους (κυρίως αρνητικοί).

Έλεγχος μικρόκοκκων (MS): Η ανάπτυξη παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων βακιτρακίνης (0,05 µg/mL) χρησιμοποιείται για τη διάκριση των σταφυλόκοκκων (θετικοί) από τους μικρόκοκκους (αρνητικοί).

Νιτρικό (NIT): Η αναγωγή του νιτρικού σε νιτρώδες ανιχνεύεται με τον σχηματισμό κόκκινου χρώματος μετά την προσθήκη σουλφανλικού οξέος 0,8% και N,N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνης 0,5%. Οι στρεπτόκοκκοι είναι αρνητικοί σε νιτρικό ενώ οι περισσότεροι σταφυλόκοκκοι είναι θετικοί σε νιτρικό.

Νοβοβιοκίνη (NOV): Η ανθεκτικότητα σε χαμηλές συγκεντρώσεις (1,6 µg/mL) νοβοβιοκίνης είναι χαρακτηριστικό ορισμένων σταφυλόκοκκων.

Γλυκοσιδάσες (PGR, PGT): Η ικανότητα ενός οργανισμού να παράγει ένα συγκεκριμένο ένζυμο γλυκοσιδάσης ανιχνεύεται διασπώντας το σύμπλεγμα p-νιτροφαινόλη-υδατάνθρακα και απελευθερώνοντας την p-νιτροφαινόλη, η οποία έχει κίτρινο χρώμα.

Φωσφατάση ινδοξυλίου (IDX): Η υδρόλυση του φωσφορικού ινδοξυλίου μέσω του ενζύμου της ινδοξυλικής φωσφατάσης έχει ως αποτέλεσμα μια αδιάλυτη μπλε ένωση. Οι περισσότεροι θετικοί σε κοαγκουλάση και DNAση σταφυλόκοκκοι είναι θετικοί σε IDX.

Voges-Proskauer (VP): Η ακετυλο-μεθυλο-καρβινόλη που παράγεται από τη γλυκόζη, αντιδρά με υδροξείδιο του καλίου 40% και α-ναφθόλη 5% για να σχηματίσει κόκκινο χρώμα.

Οπτοχίνη (OPT): Η ευαισθησία στην οπτοχίνη είναι χαρακτηριστικό του *Streptococcus pneumoniae*. Άλλοι στρεπτόκοκκοι και σταφυλόκοκκοι δεν αναστέλλονται από την οπτοχίνη.

Φωσφατάση (PHO): Η αλκαλική φωσφατάση διασπά τη φωσφορική p-νιτροφαινόλη σε ανόργανο φωσφορικό και σε p-νιτροφαινόλη η οποία έχει κίτρινο χρώμα.

Χολική εσκουλίνη (BE): Οι οργανισμοί που είναι ικανοί να αναπτυχθούν σε διάλυμα χολής 40% και να υδrolύσουν την εσκουλίνη ανιχνεύονται με σχηματισμό ενός μαύρου ιζήματος προερχόμενου από την αντίδραση του υδrolυτικού προϊόντος εσκουλετίνης με κιτρικό σίδηρο. Οι στρεπτόκοκκοι της ομάδας D, ορισμένοι στρεπτόκοκκοι viridans και ορισμένοι σταφυλόκοκκοι είναι θετικοί σε BE.

Πυρρολιδονυλ-β-ναφθυλαμίδιο (PYR): Οργανισμοί που παράγουν πυρρολινοδάση διασπούν το L-πυρρολιδονυλ-β-ναφθυλαμίδιο σε L-πυρρολιδίνη και β-ναφθυλαμίδιο που συνδυάζεται με αντιδραστήριο πεπτιδάσης (p-διμεθυλο-αμινοκινναμυλδεϋδ) για να σχηματίσει κόκκινο χρώμα.

Αργινίνη (ARG): Η απο-υδρόλυση της αργινίνης έχει ως αποτέλεσμα την αλκαλοποίηση του μέσου η οποία ανιχνεύεται μέσω της αλλαγής του δείκτη ερυθρού της φαινόλης από κίτρινο σε κόκκινο.

Ουρία (URE): Το ένζυμο ουρεάση διασπά την ουρία σχηματίζοντας αμμωνία. Η αύξηση του pH που προκύπτει ανιχνεύεται με τον δείκτη ερυθρού της φαινόλης.

Υδατάνθρακες (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): Η ζύμωση συγκεκριμένου υδατάνθρακα προκαλεί σχηματισμό οξέος. Η επακόλουθη μείωση του pH ανιχνεύεται από τον δείκτη ερυθρού της φαινόλης, που γίνεται κίτρινος.

6,5% NaCl (NACL): Η αντοχή σε χλωριούχο νάτριο 6,5% αποδεικνύεται από την ανάπτυξη. Η αντοχή στο αλάτι χρησιμοποιείται για τη διαφοροποίηση των εντερόκοκκων από τους μη εντερόκοκκους.

Βακιτρακίνη (BAC): Η ευαισθησία σε χαμηλές συγκεντρώσεις βακιτρακίνης υποδεικνύεται με την έλλειψη ανάπτυξης και είναι χαρακτηριστική για τον *Streptococcus pyogenes*.

Πυροσταφυλικό (PRV): Η χρήση του πυροσταφυλικού οδηγεί σε σχηματισμό οξέος. Η επακόλουθη μείωση του pH ανιχνεύεται από τον δείκτη ερυθρού της φαινόλης, που γίνεται κίτρινος.

Αιμόλυση (HEM): Οι στρεπτολυσίνες S και O που παράγονται από τους στρεπτόκοκκους προκαλούν πλήρη ή μερική λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε άγαρ που περιέχει αίμα προβάτου.

3. Ταυτοποίηση οργανισμών

Το Biotype Lookup Program αποξηραμένων Gram-θετικών οργανισμών της MicroScan χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση των άγνωστων οργανισμών της εξέτασης. Αυτό το πρόγραμμα έχει δημιουργηθεί από τη βάση δεδομένων της ίδιας της MicroScan. Το Lookup Program Gram-θετικών οργανισμών παρέχει τη δυνατότητα ανάλυσης με υπολογιστή 27 εξετάσεων για *Streptococcaceae* και 18 εξετάσεων για *Micrococcaceae*. Αυτές οι εξετάσεις μεταφράζονται σε 9ψήφιο ή 6ψήφιο αριθμό βιότυπου, αντίστοιχα. Ανατρέξτε στο πρόγραμμα για τη μέθοδο καταγραφής των αποτελεσμάτων. Το πρόγραμμα παραθέτει την ταυτοποίηση των οργανισμών και τις σχετικές πιθανότητες. Όλες οι πιθανότητες παρατίθενται ξεκινώντας από τη μέγιστη πιθανότητα και φτάνοντας σε αθροιστικό σύνολο 99,9%. Το πρόγραμμα χωρίζεται σε 2 ενότητες: *Micrococcaceae* και *Streptococcaceae*.

Αν ο προκύπτων βιότυπος αντιστοιχεί σε «Very Rare Biotype» (Πολύ σπάνιο βιότυπο), ανατρέξτε στο λογισμικό LabPro [Utilities (Βοηθητικά προγράμματα)>System (Σύστημα)>Biotype Lookup (Αναζήτηση βιότυπου)] ή στην υπηρεσία Biotype Lookup στον ιστότοπο της Beckman Coulter ή συμβουλευτείτε τον τοπικό διανομέα.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

1. Το Έγγραφο M7-A7 του CLSI συνιστά τη συμπλήρωση του ζωμού Mueller Hinton με αιμολυμένο αίμα ίππου, όταν εξετάζονται στρεπτόκοκκοι με σύνθετες θρεπτικές ανάγκες. Η διαδικασία για τις αποξηραμένες πλάκες Gram-θετικών οργανισμών της MicroScan είναι διαφορετική από αυτήν που συνιστάται. Σε περίπτωση ανεπαρκούς ανάπτυξης στο βοθρίο ανάπτυξης, τα βιοχημικά αποτελέσματα δεν είναι έγκυρα και θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί εναλλακτική μέθοδος.
2. Αναερόβια βακτήρια - Οι πλάκες ταυτοποίησης θετικών οργανισμών δεν είναι κατάλληλες για την εξέταση αναερόβιων Gram-θετικών κόκκων.
3. Ενδέχεται να απαιτηθούν πρόσθετες εξετάσεις προκειμένου να προσδιοριστεί η τελική ταυτοποίηση, όταν εξασφαλίζεται χαμηλή πιθανότητα (<85%) ταυτοποίησης [ανατρέξτε στο Biotype Lookup Program για αερόβιους Gram-θετικούς οργανισμούς της MicroScan ή το Microbiology Manual (Εγχειρίδιο μικροβιολογίας)].
4. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης απαιτείται εκπαιδευμένο κλινικό προσωπικό, το οποίο θα πρέπει να χρησιμοποιεί την κρίση του, τις γνώσεις του και πρόσθετες εξετάσεις επιβεβαίωσης, όπου απαιτείται, πριν από την αποδοχή της ταυτοποίησης ενός οργανισμού.
5. Οι αριθμοί βιότυπων δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση φαινότυπων στελεχών, τα οποία έχουν απομονωθεί από διάφορα δείγματα του ίδιου ασθενούς.
6. Το ανθεκτικό στη βανκομυκίνη *E. faecium* μπορεί να διακριθεί από το *E. gallinarum* μέσω ελέγχου της κινητικότητας και της παραγωγής χρωστικής. Ανατρέξτε στον πίνακα πρόσθετων εξετάσεων του Microbiology Manual (Εγχειρίδιο μικροβιολογίας) για περισσότερες πληροφορίες.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Για τις αναμενόμενες τιμές με βιοχημικά υποστρώματα, ανατρέξτε στο Percent Chart (Διάγραμμα ποσοστιαίων αναλογιών) που περιλαμβάνεται στο Microbiology Manual (Εγχειρίδιο μικροβιολογίας).

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η καταλληλότητα των μέσων ταυτοποίησης θα πρέπει να ελέγχεται με εξέταση οργανισμών που παρουσιάζουν γνωστές αντιδράσεις. Τα αποτελέσματα για τους συνιστώμενους οργανισμούς ελέγχου του American Type Culture Collection (ATCC) παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.*

Πίνακας ποιοτικού ελέγχου υποστρώματος ταυτοποίησης αποξηραμένων Gram-θετικών

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	Δ/Ι	Δ/Ι
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	Δ/Ι
NOV ²	-	Δ/Ι	-	Δ/Ι
PGR ²	-	-	-	Δ/Ι
IDX	+	Δ/Ι	Δ/Ι	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	Δ/Ι
PHO	+	Δ/Ι	-	Δ/Ι
BE	-	+	+	Δ/Ι
PYR	Δ/Ι	+	-	Δ/Ι
ARG	+	+	-	Δ/Ι
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	Δ/Ι
MAN	+	+	+	-
LAC	+	Δ/Ι	+	-
TRE	Δ/Ι	+	+	-

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
MNS	Δ/Ι	+	+	-
NACL	Δ/Ι	+	-	Δ/Ι
SOR	Δ/Ι	+	-	Δ/Ι
ARA ²	Δ/Ι	-	-	Δ/Ι
RBS	Δ/Ι	+	-	Δ/Ι
INU	Δ/Ι	-	+	Δ/Ι
RAF	Δ/Ι	-	+	Δ/Ι
BAC ²	Δ/Ι	+	+	Δ/Ι
PRV	Δ/Ι	+	-	Δ/Ι

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Ανατρέξτε στον πίνακα πρόσθετων εξετάσεων για πρόσθετες θετικές ή αρνητικές αντιδράσεις, όπως απαιτείται για κάθε βιοχημική ουσία.

3. Ενδέχεται να απαιτούνται 24 ώρες επώασης.

Δ/Ι = Δεν ισχύει

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Οι οργανισμοί ποιοτικού ελέγχου είναι επιλεγμένοι έτσι ώστε να παρέχουν θετικές/αρνητικές αντιδράσεις για όλα τα υποστρώματα ταυτοποίησης. Κατά συνέπεια, οι ταυτοποιημένοι οργανισμοί ενδέχεται να διαφέρουν από τους οργανισμούς που παρατίθενται στο διάγραμμα ΠΕ. Η αποδεκτότητα της απόδοσης του προϊόντος πρέπει να προσδιορίζεται μέσω της σύγκρισης των αποτελεσμάτων των εξετάσεων και όχι βάσει της ταυτοποίησης.

Πίνακας πρόσθετων εξετάσεων

Οργανισμός	Υπόστρωμα	Αναμενόμενο αποτέλεσμα
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Αναγνώριση

Οι αξιώσεις απόδοσης για την αποξηραμένη πλάκα ταυτοποίησης Gram-θετικών οργανισμών τύπου 3 της MicroScan καθορίστηκαν σε μια πολυκεντρική μελέτη κατά την οποία χρησιμοποιήθηκε η αποξηραμένη πλάκα ταυτοποίησης Gram-θετικών οργανισμών τύπου 2. Κλινικά απομονωμένα στελέχη και αποθηκευμένα στελέχη εξετάστηκαν στις αποξηραμένες πλάκες ταυτοποίησης Gram-θετικών οργανισμών τύπου 3 και σε συμβατικές μεθοδολογίες σωληναρίων, ώστε να αντιπροσωπευτεί ο βακτηριακός πληθυσμός που αναμένεται για αναλύσεις ρουτίνας σε κλινικό εργαστήριο. Ανατρέξτε στο MicroScan System Microbiology Information Manual (Εγχειρίδιο πληροφοριών μικροβιολογικών συστημάτων MicroScan) [Ενότητα 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria (Αποξηραμένες συμβατικές πλάκες θετικών οργανισμών: αερόβια Gram-θετικά βακτήρια)] για μια πλήρη λίστα των οργανισμών που περιλαμβάνονται στη βάση δεδομένων.

Τα αποτελέσματα για *Micrococcaceae* της αποξηραμένης πλάκας ταυτοποίησης Gram-θετικών οργανισμών τύπου 3 ήταν σύμφωνα τόσο με το επίπεδο είδους όσο και με το επίπεδο ομάδας, με ποσοστό 97,5% (157/161) των απομονωμένων στελεχών. Μόνο για ποσοστό 5,6% (9/161) των απομονωμένων στελεχών απαιτήθηκαν πρόσθετες εξετάσεις προκειμένου να επαληθευτεί μια χαμηλή πιθανότητα ταυτοποίησης του επιπέδου είδους ή ομάδας.

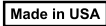
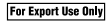
Τα αποτελέσματα *Streptococcaceae* της αποξηραμένης πλάκας ταυτοποίησης θετικών τύπου 3 ήταν συμβατά σε επίπεδο είδους με 91,3% (230/252) και σε επίπεδο ομάδας με 92,1% (232/252). Μόνο για 14,3% (36/252) των απομονωμένων στελεχών απαιτήθηκαν επιπρόσθετες δοκιμασίες προκειμένου να επαληθευτεί μια χαμηλή πιθανότητα ταυτοποίησης του επιπέδου είδους και για 4,4% (11/252) απαιτήθηκε η επαλήθευση μιας χαμηλής πιθανότητας ταυτοποίησης του επιπέδου ομάδας.

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 στην αδυναμία πραγματοποίησης 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
	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 <n> εξετάσεις	Υποδεικνύει τον συνολικό αριθμό εξετάσεων IVD που μπορούν να πραγματοποιηθούν με τη συσκευή IVD. (Περιλαμβάνεται συνήθως στα κιτ αντιδραστηρίων.)	ISO 15223-1; 5.5.5
	In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή	Υποδεικνύει μια ιατρική συσκευή που προορίζεται για χρήση ως ιατρική συσκευή για διάγνωση in vitro.	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

Υπόμνημα συμβόλων			
Σύμβολο	Τίτλος συμβόλου	Περιγραφή προτύπου	Πρότυπο
	Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας	Υποδεικνύει ένα δελτίο δεδομένων ασφαλείας.	Δ/Ι
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (革兰氏阳性菌鉴定第 3 型测试组合操作手册)

REF B1017-221

预期用途

用于 MicroScan 干式革兰氏阳性菌鉴定第 3 型测试组合。MicroScan 干式革兰氏阳性菌鉴定第 3 型测试组合适用于确定对快速生长的需氧和兼性革兰氏阳性球菌、某些苛养需氧革兰氏阳性球菌和 *Listeria monocytogenes* 等细菌种级的鉴定结果。请参阅“程序限制”部分，了解如何将其应用于苛养 streptococci。

摘要和原理

采用改良的常规测试和显色测试来鉴定 *Micrococcaceae*、*Streptococcaceae* 和 *Listeria monocytogenes*。进行鉴定的依据是：在 35°C 条件下孵育 16-44 小时后检测到的 pH 值变化、底物利用情况以及在出现抗菌剂的情况下的生长情况。^{1、2、3、4、5、6、7}

警告和注意事项

1. 仅供体外诊断使用。
2. 在整个操作过程中，请使用无菌技术并遵循既定的微生物危害预防措施，同时要特别注意，已接种的检测板中包含具有潜在致病性的微生物。
3. 本材料含有传染病原体，应视为生物危害性废物以适当方式处置并丢弃。
4. 判读此试验的结果时应当始终结合患者的病史、临床症状和其他检查结果。
5. 生长和 OPT 孔中含有 0.005% 的 hemin bovine crystalline (氯高铁血红素牛晶体)。

储存

干式革兰氏阳性测试组合必须储存在 2-25°C 下。

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

变质的迹象

长时间暴露于非推荐储存条件下，可能导致鉴定底物水解。切勿在超过有效期后使用。请联系贝克曼库尔特代表或分销商获取进一步协助。

样本的采集和准备

应按照 *Manual of Clinical Microbiology* (临床微生物学手册) 中推荐的程序采集和运输标本以及将标本放置于原代分离培养基上。⁸

提供的材料

阳性菌鉴定第 3 型测试组合 (B1017-221)

操作手册

所需但未提供的材料

0.5 McFarland 浊度标准液

0.5% N,N-二甲基- α -萘胺，30 mL (B1010-45A) 或 250 mL (B1015-45)

0.8% 对氨基苯磺酸，30 mL (B1010-44A) 或 250 mL (B1015-44)

100 μ L 带有一次性无菌吸头的移液器

5% α -萘酚，30 mL (B1010-42A)

40% 氢氧化钾，30 mL (B1010-43A) 或 250 mL (B1015-43)

盖盘 (B1010-56B)

一般实验室设备

Inoculator-D 套件 (B1013-4)

接种液，3 mL (B1015-2)

含 PLURONIC® 的接种液，25 mL (B1015-7)*

微量稀释观察器

*PLURONIC® 表面活性剂，是 BASF Corporation (美国新泽西州帕西帕尼) 的注册商标

- 矿物油，60 mL (B1010-40)
- 矿物油，250 mL (B1010-40A) – 仅用于搭配 WalkAway SI 和 WalkAway plus 仪器（以及带有矿物油自动覆盖功能的升级版 WalkAway 仪器）使用。
- Prompt® 接种系统 (B1026-10D)**
- 质量控制微生物（请参阅本手册的“质控”部分）
- 肽酶试剂，30 mL (B1012-30B) 或 250 mL (B1015-30)
- 滴管型试剂盒 (B1013-12A)
- RENOK 再水化器/接种器 (B1018-14) 或等效装置
- 浊度仪
- 旋涡振荡器
- 条码标签纸 (B1018-129)
- WalkAway 盘盖 (B1018-18)

方法
检测板的制备

- 从储存处取出要用的测试组合。**测试组合如出现下列任何情况，请勿使用。**
 - A. 没有干燥剂或干燥剂破裂。
 - B. 测试组合反应孔脱色（例如，PHO）。
 - C. 包装完整性受损（开封、刺破或撕裂）。
- 剪开包装袋并取出测试组合。如果是储存于冰箱内，则立即将测试组合从铝箔包装袋内取出。在再水化之前，等待测试组合恢复至室温。可将测试组合叠放在一起，顶部用干净的盖盘覆盖。所有测试组合一经打开，则应于当天使用，否则应丢弃。

阳性菌鉴定第 3 型

鉴定底物	缩写	鉴定底物	缩写
结晶紫	CV	脲	URE
微球菌筛选	MS	甘露糖醇	MAN
硝酸盐	NIT	乳糖	LAC
新生霉素	NOV	海藻糖	TRE
PNP-β-D-葡萄糖苷酸	PGR	甘露糖	MNS
吲哚酚磷酸酶	IDX	6.5% 氯化钠	NACL
乙酰甲基甲醇	VP	山梨醇	SOR
Optochin（奥普托欣）	OPT	阿拉伯糖	ARA
磷酸酶	PHO	核糖	RBS
40% 胆汁七叶甙	BE	菊粉	INU
L-吡咯烷酮基-β-萘酰胺	PYR	棉籽糖	RAF
精氨酸	ARG	杆菌肽	BAC
PNP-β-D-半乳糖苷	PGT	丙酮酸	PRV

接种物制备

CLSI 建议通过进行菌落计数定期检查接种物浓度。有关菌落计数的建议，请参阅 CLSI 文件 M7-A7 中的第 10.3.1.3 节。*E. coli* ATCC 25922 最终测试浓度的预期结果应接近 5 X 10⁶ CFU/mL。⁹用户应格外注意接种物的制备，特别是通过与操作技巧密切相关的手动方法（例如 Prompt 系统方法）制备的接种物，或未借助光度装置而制备的接种物。

注释：MicroScan 产品不支持对数期和稳定期技术。

- 浊度标准技术 - 原代接种物 (Primary Inoculum) 方法**

建议使用浊度标准技术直接接种所有需氧革兰氏阳性球菌。

 - A. 使用无菌棉球棍、接种环或拭子，从孵育 18-24 小时的非抑制琼脂盘中挑取形态相似、分离良好的 4-5 个大菌落或 5-10 个小菌落。
 - B. 在 3 mL 接种液（高压灭菌的去离子水）中乳化。最终浊度应相当于 0.5 McFarland 浊度标准液的浊度。可使用 MicroScan 浊度计获得相等的浊度，浊度计测量范围为 0.08 ± 0.02。将盖子盖紧。
 - C. 使悬液涡旋 2-3 秒。
 - D. 吸取 0.1 mL (100 μL) 标准悬浊液到 25 mL 含有 PLURONIC 的接种液中。盖紧盖子。翻转 8-10 次，使其混匀。

**3M, St. Paul, MN USA

2. Prompt 系统

Prompt 系统可用于生长更快速的革兰氏阳性球菌。有关 Prompt 系统的正确使用方法，请参阅 Prompt Inoculation Procedural Manual (Prompt 接种操作手册)。

注释：请小心使用。如果微生物不满足大小要求，则可能会出现接种量不足。接种量不足可导致得出错误的鉴定测试结果。

测试组合再水化/接种

再水化和接种是使用带有 inoculators-D (B1013-4) 的 RENOK 系统进行的。请参阅 RENOK Operator's Manual for use (RENOK 操作人员使用手册)。如果使用其它系统，则使用 115 + 10 μ L 的接种液 (PLURONIC) 进行再水化。最后孔的浓度应达到 $3-7 \times 10^5$ CFU/mL。

为保证受测微生物的存活能力和纯度，应制备一块纯度检测板，制备方法是将接种物划线接种到适当的琼脂平板上，并在适当条件下孵育。如果该纯度检测板上有两种或两种以上的菌落类型，则需重新分离这些菌落并重新进行测试。

生化覆盖

1. 使用滴瓶，用至少 3 滴矿物油覆盖 ARG 和 URE 反应孔。(这些反应孔已在测试组合上标出。)
2. 反应孔中的培养基必须完全被矿物油覆盖，但是矿物油不应溢出反应孔外。

注释：WalkAway SI 仪器和 WalkAway plus (以及带有矿物油自动覆盖功能的升级版 WalkAway 仪器) 会自动向对应的孔中添加矿物油。

培育

1. 可以在 WalkAway 系统内孵育测试组合或采用下列步骤进行离线孵育：
 - A. 可将检测板 3-5 个一组叠放，以确保其在孵育过程中的热量分布均匀。
 - B. 在每组测试组合顶部用干净的盖盘覆盖，以防止水分蒸发。盖盘可重复使用。切勿用酒精消毒盖盘，可用肥皂和水清洗盖盘。彻底冲洗后等待其自然风干。
 - C. 将测试组合放入非 CO₂ 孵育箱中，在 35°C 条件下孵育 16-20 小时。

读取测试组合

可以使用 MicroScan 微量稀释法观察器以手动方式读取测试组合，并将结果记录在 Manual Panel Worksheet (手动读取测试组合工作表) (请参阅本操作手册中的“需要但未提供的材料”部分) 中或 MicroScan 仪器 (touchSCAN-SR、autoSCAN-4 和 WalkAway 系统) 上。请参阅适当的操作手册，了解如何使用 MicroScan 仪器读取测试组合。

1. 孵育 16-20 小时之后，将检测板从孵育箱中取出。
2. 用无绒纸巾擦拭检测板的底部，以除去任何可能存在的凝结水或碎屑。
3. 只有在对照孔清澈且生长对照孔呈现混浊时，才能进行测试组合的读取。浑浊的表现形式可能是：整个孔呈白色雾状、孔中央有一白色按钮状物，或整个孔内有分界清晰的颗粒状生长。生长不充分表现为孔中微白或液体培养基清澈。
4. 如果手动读取结果，请将结果记录在适当的工作表上。
5. 读取鉴定底物
 - A. 除了 CV、MS、NOV、OPT、NACL 和 BAC 应当在黑色 (非直接照明) 背景下读取之外，所有鉴定底物均应在白色背景下读取。
 - B. 在孵育 16-20 小时之后，记录 IDX 和 PHO 结果。
 - C. 带有阴性 PGT 和少于 3 个阳性碳水化合物化合物的测试组合应当再次孵育 24 小时，之后再进行最终读取和鉴定。
 - D. 只有具有 3 个碳水化合物或者 PGT 反应为阳性的测试组合才应当在 16-20 小时加入试剂。在 40-44 小时，无论阳性测试的数量为多少，均添加试剂。
 - E. 在添加试剂之前，记录所有的阳性反应。
 - F. 按照下述步骤加入试剂：
 - a. 加入 1 滴 40% 氢氧化钾 (KOH) 和 1 滴 5% α -萘酚到 VP 反应孔中。等待至少 20 分钟以进行 VP 反应，之后再读取结果。
 - b. 加入 1 滴 0.8% 磺胺酸和 1 滴 0.5% N, N-二甲基- α -萘胺到 NIT 反应孔中。等待至少 5 分钟以进行 NIT 反应，之后再读取结果。
 - c. 加入 2 滴肽酶试剂到 PYR 反应孔中。等待 2 分钟后再读取结果。
 - G. 请参阅“结果”部分，以便帮助对生化结果进行判读。

结果

1. 生化判读

孔	试剂	阳性	阴性
CV			
MS			
NOV			
OPT		生长	无生长
NACL			
BAC			
NIT	加入 1 滴 0.8% 磺胺酸和 1 滴 0.5% N,N-二甲基- α -萘胺。等待 5 分钟以进行反应。	粉红色到红色	透明（无色）到可能很浅的粉红色
PGR	出现任何程度的黄色均应判读为阳性。将 NOV 孔用作阴性质控品。	黄色	透明（无色）
PHO			
PGT			
IDX		蓝色到灰色/沉淀物	透明（无色）或者白色沉淀物
VP	加入 1 滴 40% 氢氧化钾和 1 滴 5% α -萘酚。至少等待 20 分钟以进行反应。	粉红色到红色	透明（无色）到棕色，可能浑浊或者很浅的粉红色
BE		深棕色到黑色	透明（无色）到浅棕色
PYR	加入 2 滴肽酶试剂。等待 2 分钟以进行反应。	红色/橙色到红色	黄色到橙色/红色
ARG		粉红色/橙色到粉红色	黄色到橙色
URE		粉红色	黄色到橙色
RAF			
LAC			
TRE			
MNS			
SOR	任何橙色调均应判读为阴性。	黄色	橙色到红色
ARA			
RBS			
INU			
MAN			
PRV			
HEM		β	α 或 γ
LOC	仅用于 autoSCAN-4 和 WalkAway 系统测试组合的确认。		

干式革兰氏阳性菌鉴定 — 优化的鉴定质控 ¹					
QC 微生物	ATCC 编号	主要指示剂底物	预期的结果	不合格结果	不稳定底物
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	—	+	是

1. 根据 CLSI 文件 M50-A 提供了质量控制关键指标，以便实现优化的质量控制。¹⁰ 在实施优化质控程序前，请参阅 M50-A 文件了解详细信息，并由适当的监管机构和检查小组检查进行确认验收。

2. 鉴定反应原理

结晶紫 (CV)：在低浓度结晶紫液体中的生长状况可用来区分链球菌（阳性）与葡萄球菌（多数是阴性）。

球菌筛检 (MS)：在低浓度 (0.05 $\mu\text{g/mL}$) 杆菌肽液体中的生长状况可用来区分葡萄球菌（阳性）与微球菌（阴性）。

硝酸盐 (NIT)：通过在添加 0.8% 的磺胺酸和 0.5% 的 N, N-二甲基- α -萘胺后看到红色的形成，可以检测是否将硝酸盐还原为了亚硝酸盐。链球菌硝酸盐检测为阴性，而绝大多数葡萄球菌硝酸盐检测为阳性。

新生霉素 (NOV)：某些葡萄球菌可对低浓度 (1.6 $\mu\text{g/mL}$) 新生霉素产生耐药性。

糖苷酶 (PGR、PGT)：通过裂解对硝基苯基碳水化合物络合物以释放黄色的对硝基苯酚，可以检测微生物能否产生特定的糖苷酶。

吲哚酚磷酸酶 (IDX)：用吲哚酚磷酸酶水解吲哚酚磷酸盐会产生不能溶解的蓝色化合物。绝大多数凝固酶和脱氧核糖核酸酶为阳性的葡萄球菌，IDX 反应为阳性。

乙酰甲基甲醇 (VP)：从葡萄糖中产生的乙酰甲基甲醇与 40% 的氢氧化钾和 5% 的 α -萘酚发生化学反应，生成红色。

奥普托欣 (OPT)：*Streptococcus pneumoniae* 对奥普托欣敏感。奥普托欣不能抑制其他链球菌和葡萄球菌。

磷酸酶 (PHO)：碱性磷酸酶能将对硝基苯磷酸盐裂解成为无机磷酸盐和黄色的对硝基酚。

胆汁七叶苷 (BE)：对于能够在 40% 的胆汁中生长并能水解七叶苷的微生物，可通过水解出的七叶苷与柠檬酸铁进行化学反应而产生的黑色沉淀物检测到它们。D 群链球菌、某些绿色链球菌和某些葡萄球菌都是 BE 阳性。

吡咯烷酮- β -萘基酰胺 (PYR)：产生吡咯烷酮基芳胺酶的微生物可以将 L-吡咯烷酮- β -萘基酰胺裂解为 L-吡咯烷酮和 β -萘基酰胺，与肽酶试剂（p-dimethyl-aminocinnamaldehyde，中文别名为：对二甲基氨基肉桂醛）结合会产生红色。

精氨酸 (ARG)：精氨酸脱水会造成介质碱化，这可以通过酚红指示剂由黄到红的颜色变化检测。

尿素 (URE)：尿素酶分解尿素形成氨。反应导致 pH 值升高并被酚红指示剂所检测。

碳水化合物 (RAF、LAC、TRE、MNS、SOR、ARA、RBS、INU、MAN)：特定碳水化合物的发酵会导致酸的生成。结果导致 pH 值下降，这可通过酚红指示剂变黄检测到。

6.5% 氯化钠 (NACL)：对 6.5% 氯化钠的耐受性可通过生长情况来判定。耐盐性可用于区分 enterococci 和非 enterococci。

杆菌肽 (BAC)：对低浓度杆菌肽的敏感性表现为不生长，这是 *Streptococcus pyogenes* 的特征。

丙酮酸盐 (PRV)：利用丙酮酸盐会导致酸的生成。结果导致 pH 值下降，这可通过酚红指示剂变黄检测到。

溶血 (HEM)：由链球菌产生的链球菌溶血素 S 和 O 会导致对含有羊血的琼脂中全部或部分红细胞的溶血。

3. 微生物鉴定

MicroScan 干式革兰氏阳性菌 Biotype Lookup Program 可用于鉴定未知测试微生物。该程序的构建基于 MicroScan 自有数据库。革兰氏阳性菌 Lookup Program 可提供对于 *Streptococcaceae* 的 27 项测试以及 *Micrococcaceae* 的 18 项测试的计算机分析。这两类测试的结果将分别被转译为 9 位数或 6 位数的生物型码。请参该阅程序中的相关内容，了解记录结果的方法。该程序会列出微生物鉴定结果及相对概率。所有可能的结果均按照概率从高到低的顺序列出，累计总概率最高可达到 99.9%。该程序分为 2 个部分：*Micrococcaceae* 和 *Streptococcaceae*。

如果出现的生物型结果为“极罕见生物型”，请查阅 LabPro 软件（依次选择 Utilities（实用程序）>System（系统）>Biotype Lookup（生物型查询）），或使用贝克曼库尔特公司网站提供的 Biotype Lookup 服务，或咨询您的当地经销商。

程序的局限性

- 1. 根据 CLSI 文件 M7-A7，建议在测试苛养 streptococci 时，补充含溶解马血的 Mueller Hinton 液体培养基。MicroScan 干式革兰氏阳性菌测试组合程序与此建议不同。如果生长孔中存在生长不足情况，则表明生化结果无效，应使用其他方法。
- 2. 厌氧菌 - 阳性菌鉴定测试组合不适合测试厌氧革兰氏阳性球菌。
- 3. 如果获得的鉴定结果为低概率 (<85%)，则可能需要进行附加测试，以确定最终鉴定结果（请参见适用于需氧革兰氏阳性菌微生物的 MicroScan Biotype Lookup Program 或参阅 Microbiologics Manual（微生物学手册））。
- 4. 应由受过专业培训的临床工作人员判读测试结果，这些人员需综合运用其判断能力、知识和所需的补充验证测试，然后才能接受微生物鉴定结果。
- 5. 生物型码不得用于分离自同一患者不同样品的菌株表型鉴定。
- 6. 通过检查运动性和色素的产生，可以将耐万古霉素的 *E. faecium* 与 *E. gallinarum* 区别开来。请参阅 Microbiologics Manual（微生物学手册）的额外测试表，了解更多信息。

预期值

欲了解生化底物的期望值，请参阅 Microbiologics Manual（微生物学手册）中所载的 Percent Chart（百分比图表）。

质量控制

应当通过测试具有已知反应的微生物来检查鉴定培养基的可接受性。下表列出了推荐的 American Type Culture Collection (ATCC) 对照微生物的检测结果。*

干式革兰氏阳性鉴定底物质量控制表

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	不适用	不适用
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	不适用
NOV ²	-	不适用	-	不适用
PGR ²	-	-	-	不适用
IDX	+	不适用	不适用	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	不适用
PHO	+	不适用	-	不适用
BE	-	+	+	不适用
PYR	不适用	+	-	不适用
ARG	+	+	-	不适用
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	不适用
MAN	+	+	+	-
LAC	+	不适用	+	-

*American Type Culture Collection（美国标准菌种保藏中心），地址：Manassas, VA USA。

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
TRE	不适用	+	+	-
MNS	不适用	+	+	-
NACL	不适用	+	-	不适用
SOR	不适用	+	-	不适用
ARA ²	不适用	-	-	不适用
RBS	不适用	+	-	不适用
INU	不适用	-	+	不适用
RAF	不适用	-	+	不适用
BAC ²	不适用	+	+	不适用
PRV	不适用	+	-	不适用

1. 美国标准菌种保藏中心，地址：Manassas, VA USA

2. 请参阅“补充测试表”，以了解各生化试剂所需的额外阳性或阴性反应。

3. 可能需要孵育 24 小时。

N/A = 不适用

注释：选择质量控制微生物应为所有鉴定底物提供阳性/阴性反应。因此，微生物鉴定可能会与 QC 表中列出的不同。产品性能的可接受性应根据比较测试结果而非鉴定结果确定。

补充测试表

微生物	底物	预期的结果
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

性能特征

识别

在一项多中心研究中，已使用干式革兰氏阳性菌第 2 型测试组合确立了 MicroScan 干式革兰氏阳性菌第 3 型测试组合的性能。用干式阳性菌鉴定第 3 型测试组合和传统试管法对临床分离株和库存菌株进行了测试，用以说明常规临床实验室中的预期细菌种群类型。请参阅 MicroScan System Microbiologics Information Manual (MicroScan 系统微生物学信息手册) 中的 Section 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria (第 4 节：干式常规阳性测试组合：革兰氏阳性需氧菌)，以查看数据库中包含的微生物的完整列表。

干式阳性菌鉴定第 3 型测试组合的 *Micrococcaceae* 结果与 97.5% (157/161) 这一分离株鉴定结果在菌种和菌群级别上相符合。仅结果为 5.6% (9/161) 的分离株需进行附加测试，用以确认低概率菌种或者菌群级别鉴定结果。

干式阳性鉴定 3 型测试组合的 *Streptococcaceae* 结果与 91.3% (230/252) 分离菌株的结果在菌种水平上相符合，与 92.1% (232/252) 分离菌株的结果在属水平上相符合。仅有 14.3% (36/252) 的分离株需要补充测试以确认低概率菌种鉴定结果，4.4% (11/252) 的分离株需要补充测试以确认低概率属水平鉴定结果。

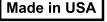
保修声明

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。客户负责执行例行的预防性保养程序。因未按指定时间间隔执行这些保养程序而导致的维修将由贝克曼库尔特公司酌情处置，相关费用由客户承担。

符号注解

符号注解			
符号	符号名称	标准说明	标准
②	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
REF	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

符号注解

符号	符号名称	标准说明	标准
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (3-as típusú, Gram-pozitív azonosító panelek kézikönyve)

REF B1017-221

RENDELTESSZERŰ HASZNÁLAT

A MicroScan szárított, 3-as típusú, Gram-pozitív azonosító panelekkel való használatra. A MicroScan szárított, 3-as típusú, Gram-pozitív azonosító panelek a gyorsan növekvő aerob és fakultatív Gram-pozitív coccusok, egyes kényes aerob Gram-pozitív coccusok és a *Listeria monocytogenes* fajszerű azonosítására szolgálnak. A kényes Streptococcusok vizsgálatára vonatkozó információk a Limitations of Procedure (Az eljárás korlátai) című fejezetben találhatók.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS ELVEK

A *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* család tagjai, valamint a *Listeria monocytogenes* azonosítása módosított hagyományos és kromogén tesztek segítségével történik. Az azonosítás alapja az antimikrobiális szerek jelenlétében 16–44 órán át 35 °C-on végzett inkubálást követően mért pH-változások, a szubsztráthasznosítás és a szaporodás.^{1,2,3,4,5,6,7}

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Kizárólag *in-vitro* diagnosztikai használatra.
2. Valamennyi eljárás során aseptikus 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.
3. Ez az anyag fertőző kórokozókat tartalmaz; megfelelően, veszélyes biológiai anyagként kell ártalmatlanítani.
4. A teszt eredményeit mindig a beteg anamnézisével, klinikai vizsgálati eredményeivel és egyéb leleteivel együttesen kell értelmezni.
5. A növekedési és az OPT cella 0,005% kristályos szarvasmarha hemint tartalmaz.

TÁROLÁS

A szárított Gram-pozitív paneleket 2–25 °C-on kell tárolni.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva.

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

MEGROMLÁSRA UTALÓ JELEK

Ha hosszú időre az ajánlott tárolási körülményektől eltérő környezeti feltételeknek teszik ki az azonosító szubsztrátokat, az a hidrolízisükhöz vezethet. Ne használja a lejáratú időn túl. Ha további segítségre van szüksége, forduljon a Beckman Coulter képviselőjéhez vagy forgalmazójához.

MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

A megfelelő mintákat a *Manual of Clinical Microbiology* (Klinikai mikrobiológiai kézikönyv) című kiadványban ajánlott eljárások szerint kell összegyűjteni, szállítani és elsődleges izoláló táptalajra helyezni.⁸

SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

Poz. azonosító, 3-as típusú (B1017-221)

Az eljárás útmutatója

SZÜKSÉGES, DE NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

0,5 McFarland turbiditási standard

0,5% N, N-dimetil- α -naftilamin, 30 mL (B1010-45A) vagy 250 mL (B1015-45)

0,8% szulfanilsav, 30 mL (B1010-44A) vagy 250 mL (B1015-44)

100 μ L pipetta steril, egyszer használatos hegyekkel

5% α -naftol, 30 mL (B1010-42A)

40%-os kálium-hidroxid oldat, 30 mL (B1010-43A) vagy 250 mL (B1015-43)

Fedőtálcák (B1010-56B)

Általános laboratóriumi felszerelés

Leoltáshoz használt Inoculator-D készlet (B1013-4)

Inokulumfolyadék, 3 mL (B1015-2)

PLURONIC® tartalmú inokulumfolyadék, 25 mL (B1015-7)*

Mikrohígítás-megtekintő

Ásványolaj, 60 mL (B1010-40)

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

Prompt® inokulációs rendszer (B1026-10D)**

Mikroorganizmusok minőség-ellenőrzéshez (lásd a jelen kézikönyv minőség-ellenőrzésre vonatkozó szakaszát)

Peptidáz reagens, 30 mL (B1012-30B) vagy 250 mL (B1015-30)

Reagenscsepegtető készlet (B1013-12A)

RENOK rehidratáló/inokulátor (B1018-14) vagy azzal egyenértékű

Turbiditásmérő készülék

Vortex

Vonalkódcímke-papír (B1018-129)

WalkAway fedőtálcák (B1018-18)

ELJÁRÁS

Panel előkészítése

- Vegye ki a tárolóból a használandó paneleket. **Ne használja az olyan paneleket, amelyeknél fennáll az alábbiak valamelyike.**
 - Nincs a csomagban szárítószer, vagy kiszakadt a szárítószer csomagolása.
 - A panel cellái elszíneződtek (például PHO).
 - Sérült (felbontott, lyukas vagy szakadt) a csomagolás.
- Vágja fel a tasakot, és vegye ki belőle a panelt. Ha a panel hűtőben volt tárolva, azonnal vegye ki a fóliatasakból. A rehidratálás előtt hagyja a paneleket szobahőmérsékletűre melegedni. A panelek egymásra helyezhetők; a legfelső panelre tiszta fedőtálcát kell helyezni. Minden felbontott panelt ugyanazon a napon fel kell használni, vagy ki kell dobni.

Poz. azonosító, 3-as típusú

Azonosításhoz használt szubsztrátok	Röv.	Azonosításhoz használt szubsztrátok	Röv.
Kristályibolya	CV	Urea	URE
Micrococcus vizsgálat	MS	Mannit	MAN
Nitrát	NIT	Laktóz	LAC
Novobiocin	NOV	Trehalóz	TRE
PNP-β-D-glükuronid	PGR	Mannóz	MNS
Indoxil-foszfátáz	IDX	Nátrium-klorid 6,5%	NACL
Voges-Proskauer	VP	Szorbit	SOR
Optochin	OPT	Arabinóz	ARA
Foszfátáz	PHO	Ribóz	RBS
40% epe-eszkulin	BE	Inulin	INU
L-pirrolidonil-β-naftilamid	PYR	Raffinóz	RAF
Arginin	ARG	Bacitracin	BAC
PNP-β-D-galaktopiranozid	PGT	Piruvát	PRV

Az inokulum előkészítése

A CLSI ajánlásai szerint az inokulum sűrűségét a telepszámlálás módszerével rendszeresen ellenőrizni kell. A telepszámra vonatkozó ajánlásokat lásd az M7-A7 jelű CLSI dokumentum 10.3.1.3-as szakaszában. Az *E. coli* ATCC 25922 várt eredményének közelítenie kell az 5×10^5 CFU/mL végleges teszt koncentrációs értéket.⁹ A felhasználónak gondosan kell eljárnia az inokulum elkészítésekor, különösen a technikától függő manuális módszerek alkalmazásakor, mint például a Prompt rendszer vagy a fotométereszköz nélküli inokulumkészítés.

Megjegyzés: A MicroScan termékekhez nem használhatók log- és stacionáriusfázis-módszerek.

1. Turbiditási standardot alkalmazó technika – Elsődleges inokulációs módszer

Valamennyi aerob Gram-pozitív coccus közvetlen leoltásához a turbiditási standardot alkalmazó technikát javasoljuk.

- Steril pálca, oltókacs vagy vattapálca segítségével érintse meg egy gátló hatást nem kifejtő, 18–24 órás agarlemezen lévő 4–5 nagyobb vagy 5–10 kisebb, morfológiailag azonos, megfelelően izolált telep felületét.

*PLURONIC® felületaktív anyagok, a BASF Corporation (Parsippany, NJ USA) bejegyzett védjegye

**3M, St. Paul, MN USA

- B. Emulgeálja 3 mL inokulumfolyadékban (autoklávozott, ioncserélt víz). A végső turbiditásnak egy 0,5 McFarland turbiditási standardéval megegyezőnek kell lennie. Azonos turbiditás érhető el $0,08 \pm 0,02$ mérési tartományú MicroScan turbiditásmérő segítségével. Szorosan zárja le.
- C. Vortexelje a szuszpenziót 2–3 másodpercig.
- D. Pipettázzon 0,1 mL (100 µL) standardizált szuszpenziót 25 mL PLURONIC-tartalmú inokulumfolyadékba. Jól zárja le. Az oldatot 8–10-szer átfordítva jól keverje össze.

2. Prompt rendszer

A Prompt rendszer gyorsan növe Gram-pozitív coccusok esetén használható. A Prompt rendszer megfelelő használatát a Prompt Inoculation Procedural Manual (A Prompt inokulációs eljárás kézikönyve) ismerteti.

Megjegyzés: Körültekintően kell alkalmazni. Előfordulhat alulinokuláltság olyan mikroorganizmusok esetében, amelyek nem felelnek meg a méretre vonatkozó feltételeknek. Az alulinokuláltság helytelen érzékenységi teszteredményekhez vezethet.

Panel rehidratálása/beoltása

A rehidratálás és inokulálás a RENOK rendszer segítségével, Inoculators-D készlettel történik (B1013-4). A rendszer használatát lásd RENOK Operator's Manual (A RENOK kezelői kézikönyve). Más rendszer használatakor a rehidratálást 115 + 10 µL inokulumfolyadékkal (PLURONIC) kell végezni. $3-7 \times 10^5$ CFU/mL végső cellakonzentrációt kell elérni.

A vizsgált mikroorganizmus életképességének és tisztaságának biztosítása érdekében tiszta tenyészetet tartalmazó lemezt kell készíteni, amelyhez az inokulumot megfelelő agarlemezre szélesztve, megfelelő körülmények között kell inkubálni. Ha a tiszta tenyészetet tartalmazó lemezen kettő vagy annál több teleptípus jelenik meg, izolálja újra a telepeket, és ismét végezze el a vizsgálatot.

Biokémiai felülrétegzés

1. Csepegtető üveg segítségével legalább 3 csepp ásványolajat használva végezze el az ARG és URE cellák felülrétegzését. (Ezek a cellák felirattal vannak ellátva a panelen.)
2. Az ásványolajnak teljesen be kell fednie a cellákban lévő táptalajt, de nem folyhat ki a cellákból.

Megjegyzés: A WalkAway *SI* és WalkAway *plus* berendezések (valamint az automatikus olaj-felülrétegzés funkcióval frissített WalkAway berendezések) automatikusan olajat adagolnak a megfelelő cellákba.

Inkubáció

1. A panelek WalkAway rendszerben vagy rendszeren kívül inkubálhatók, az alábbi lépések szerint:
 - A. Az inkubálás alatti egyenletes hőeloszlás biztosítása érdekében helyezze egymásra a paneleket, 3–5-ös csoportokat kialakítva.
 - B. A párolgás megakadályozása céljából tiszta fedőtálcával fedje le az egyes panelcsoportokat. A fedőtálcák újrahasználatosak. A fedőtálcák fertőtlenítéséhez ne használjon alkoholt. Szappannal és vízzel tisztíthatók. A fedőtálcákat alaposan öblítse át, és hagyja a levegőn megszáradni.
 - C. A paneleket 16–20 órán át kell inkubálni 35 °C-on, nem CO₂ inkubátorban.

A panelek leolvasása

A panelek manuálisan leolvashatók a MicroScan Microdilution Viewer mikrohígítás-megtekintővel, és az eredmények rögzíthetők egy Manual Panel Worksheet (Manuális panelmunkalap) lapon (lásd a jelen eljárási kézikönyv Szükséges, de nem biztosított anyagok című szakaszát) vagy a MicroScan berendezések (touchSCAN-SR, autoSCAN-4 és WalkAway rendszerek) segítségével. A panelek MicroScan berendezéssel való leolvasásának leírását a megfelelő kezelői kézikönyv tartalmazza.

1. 16–20 órás inkubálást követően vegye ki a paneleket az inkubátorból.
2. Az esetleges kicsapódás vagy törmelék eltávolítása céljából törölje át a panel alját egy szálmentes törölkendővel.
3. Csak akkor olvassa le a paneleket, ha a kontrollcella tiszta, és a növekedésvizsgálati cella tartalma zavarossá vált. A zavarosodás a cella egész térfogatában megjelenő fehér fátyolosság, a cella közepén megjelenő fehér üledék vagy a cella egész térfogatában megjelenő finom szemcsés növekedés formájában lehet jelen. A nem megfelelő növekedést a cellában kialakuló enyhe fehéredés vagy a tápoldat áttetszősége jelzi.
4. Az eredmények manuális leolvasásakor jegyezze fel az eredményeket a megfelelő munkalapra.
5. Az azonosításhoz használt szubsztrátok leolvasása
 - A. Minden azonosításhoz használt szubsztrátot fehér háttér előtt kell leolvasni, kivéve a CV, MS, NOV, OPT, NACL és BAC szubsztrátokat, melyeket fekete (indirekt megvilágítású) háttér előtt.
 - B. Az IDX és PHO eredmények rögzítése 16–20 óra inkubálást követően történik.
 - C. Azokat a paneleket, amelyeken negatív PGT és kevesebb mint három pozitív szénhidrát látható, a végső kiértékelés és azonosítás előtt további 24 órán keresztül inkubálni kell.

- D. Csak azokhoz a panelekhez kell 16–20 órát követően reagenst adni, amelyek háromféle szénhidrátot tartalmaznak, vagy ahol a PGT-reakció pozitív. 40–44 órát követően hozzá kell adni a reagenst a pozitív tesztek számától függetlenül.
- E. A reagens hozzáadása előtt fel kell jegyezni az összes pozitív reakciót.
- F. Adja hozzá az alábbi reagenseket:
- Adjon a VP cellához 1 csepp 40%-os kálium-hidroxid (KOH) és 1 csepp 5%-os α -naftol oldatot. Leolvasás előtt várjon legalább 20 percet a VP reakció lejátszódásához.
 - Adjon a NIT cellához 1 csepp 0,8%-os szulfanilsav oldatot és 0,5%-os N,N-dimetil- α -naftilamin oldatot. Leolvasás előtt várjon legalább 5 percet a NIT-reakció lejátszódásához.
 - Adjon 2 csepp peptidáz reagenst a PYR cellához. Leolvasás előtt várjon 2 percet.
- G. A biokémiai értelmezéshez segítségként lásd a RESULTS (Eredmények) című részt.

EREDMÉNYEK

1. Biokémiai értelmezések

Cella	Reagent	Pozitív	Negatív
CV MS NOV OPT NACL BAC		Növekedés	Nincs növekedés
NIT	Adjon hozzá 1 csepp 0,8%-os szulfanilsavat és 1 csepp 0,5%-os N,N-dimetil- α -naftilamint. Várjon 5 percet a reakció lejátszódásához.	Rózsaszín-vörös	A nagyon halvány rózsaszín áttetszőnek (színtelennek) tűnhet
PGR PHO PGT	A sárga bármely árnyalata pozitívnak tekintendő. A NOV cella negatív kontrollként használható.	Sárga	Áttetsző (színtelen)
IDX		Kéktől szürkéig / csapadék	Áttetsző (színtelen) vagy fehér csapadék
VP	Adjon hozzá 1 csepp 40%-os kálium-hidroxid (KOH) és 1 csepp 5%-os α -naftol oldatot. Várjon legalább 20 percet a reakció lejátszódásához.	Rózsaszín-vörös	Áttetszőtől (színtelentől) barnáig, lehet opálos vagy nagyon halvány rózsaszín
BE		Sötétbarnától feketéig	Áttetsző (színtelen) vagy halványbarna
PYR	Adjon hozzá 2 csepp peptidáz reagenst. Várjon 2 percet a reakció lejátszódásához.	Vörös/narancssárgától vörösig	Sárgától narancs/vörösig
ARG		Rózsaszín / narancssárgától rózsaszínig	Sárga-narancssárga
URE		Rózsaszín	Sárga-narancssárga
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Bármilyen narancssárga árnyalatot negatívnak kell tekinteni.	Sárga	Narancssárga-vörös
HEM		Beta	Alfa vagy gamma
LOC	Az autoSCAN-4 és WalkAway rendszer paneljeinél csak felismeréshez.		

Szárított Gram-pozitív azonosítás – Korszerűsített azonosítású minőség-ellenőrzés ¹					
Minőség-ellenőrzési mikroorganizmus	ATCC-szám	Kulcs indikátor szubsztrát	Várt eredmény	A specifikációkon kívül eső eredmények	Bomlékony szubsztrát
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Igen

1. A minőség-ellenőrzés kulcs indikátorai elérhetők a korszerűsített minőség-ellenőrzéshez az M50-A jelű CLSI dokumentum szerint.¹⁰ A korszerűsített minőség-ellenőrzési program kivitelezése előtt a részletekért olvassa el az M50-A dokumentumot, és egyeztessen a megfelelő szabályozó és vizsgálati ellenőrző szervekkel az elfogadhatóság megerősítése érdekében.

2. Az azonosítási reakciók alapelvei

Kristályibolya (CV): A kis koncentrációjú kristályibolya jelenlétében a szaporodás alapján megkülönböztethető a *Streptococcus* (pozitív) és a *Staphylococcus* (többnyire negatív).

Micrococcus vizsgálat (MS): A kis koncentrációjú bacitracin (0,05 µg/mL) jelenlétében megfigyelhető szaporodás alapján a *Staphylococcus* (pozitív) és a *Micrococcus* (negatív) elkülöníthetők egymástól.

Nitrát (NIT): A nitrát nitritté való redukciója 0,8%-os szulfanilsav-oldat és 0,5%-os N,N-dimetil- α -naftilamin oldat hozzáadását követően, a vörös szín megjelenése alapján azonosítható. A *Streptococcus* nitrátnegatívak, míg a legtöbb *Staphylococcus* nitrátpozitív.

Novobiocin (NOV): A kis koncentrációjú (1,6 µg/mL) novobiocinnal szembeni rezisztencia jellemző néhány *Staphylococcus*-ra.

Glikozidázok (PGR, PGT): Egy mikroorganizmus adott glikozidáz-enzim-termelésének képessége a p-nitrofenil-karbohidrát komplex bontása alapján azonosítható, amely sárga színű p-nitrofenol termelődésével jár.

Indoxil-foszfátáz (IDX): Az indoxil-foszfát indoxil-foszfátáz enzimmal történő hidrolízise oldhatatlan kék vegyület létrejöttét eredményezi. A legtöbb koaguláz- és DNáz-pozitív *Staphylococcus* IDX-pozitív.

Voges-Proskauer (VP): A glükózból létrejött acetil-metil-karbinol 40%-os kálium-hidroxid-oldat és 5%-os alfa-naftol oldat jelenlétében vörös színű reakciót ad.

Optochin (OPT): Az optochinnal szembeni érzékenység a *Streptococcus pneumoniae* sajátossága. Más *Streptococcus*ok és *Staphylococcus*ok szaporodását az optochin nem gátolja.

Foszfátáz (PHO): Az alkalikus foszfátáz a p-nitropropenil foszfátot szervesen foszfátra és p-nitrofenolra bontja, amely sárga színű.

Epe-eszkulin (BE): Azon mikroorganizmusok, amelyek 40%-os epe- és hidrolizált eszkulin oldatban képesek szaporodni, a hidrolízis termékeként megjelenő eszkuletin és a vas-citrát reakciója nyomán létrejött fekete csapadék alapján azonosíthatók. A D csoportba tartozó *Streptococcus*ok, a *Streptococcus viridans* csoport bizonyos tagjai, illetve egyes *Staphylococcus*ok BE-pozitívak.

Pirronidonil- β -naftilamid (PYR): A pirrolidáztermelő mikroorganizmusok az L-pirrolidonil- β -naftilamidot L-pirrolidonra és β -naftilaminra bontják, amely peptidáz reagenssel (p-dimetil-amino-cinnamaldehyd) együtt vörös színreakciót eredményez.

Arginin (ARG): Az arginin dehidralizációja a táptalaj lúgosodásához vezet, amely a fenolvörös indikátor sárgáról vörösre történő színátmenete alapján észlelhető.

Urea (URE): Az ureáz nevű enzim bontja a húgysavat, ami ammóniaképződéssel jár. Az ezt kísérő pH-növekedés fenolvörös indikátor segítségével kimutatható.

Szénhidrátok (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): Az adott szénhidrát fermentációja savképződést eredményez. Az pH-érték ezt követő csökkenése a fenolvörös indikátor sárga színre történő változása alapján észlelhető.

6,5%-os NaCl-oldat (NACL): A 6,5%-os nátrium-klorid oldattal szembeni toleranciát a szaporodás jelzi. Az *Enterococcus*ok és a nem *Enterococcus*ok elkülönítésére a sótolerancia vizsgálata használatos.

Bacitracin (BAC): A kis koncentrációjú bacitracinnal szembeni érzékenységet a szaporodás hiánya jelzi, és a *Streptococcus pyogenes*-re jellemző.

Piruvát (PRV): A piruvát felhasználása savképződést eredményez. Az ebből eredő pH-érték-csökkenést a fenolvörös indikátor sárga színre történő változása jelzi.

Hemolízis (HEM): A *Streptococcus*ok által termelt streptolizin S és O a vörösvértestek teljes vagy részleges lízisét okozza bárányvér tartalmazó agárban.

3. Mikroorganizmusok identifikálása

A MicroScan szárított Gram-pozitív Biotype Lookup Program az ismeretlen vizsgálati mikroorganizmusok azonosítására szolgál. Ezt a programot a MicroScan saját adatbázisából hoztuk létre. A Gram-pozitív Lookup Program számítógépes elemzési funkciókat biztosít 27-féle *Streptococcaceae*-vizsgálathoz, és 18-féle *Micrococcaceae*-vizsgálathoz. A tesztek eredményét ennek megfelelően 9 vagy 6 számjegyű biotípuszámra fordítja le. Az eredmények rögzítésének módszeréért tekintse meg a programot. A program felsorolja a mikroorganizmus-azonosító(ka)t és ezek relatív azonosítási valószínűségét. A lehetőségeket csökkenő valószínűségi sorrendben sorolja fel, legfeljebb 99,9% összesített értékig. A program 2 szakaszra bontható: *Micrococcaceae* és *Streptococcaceae*.

Ha olyan biotípuszám fordul elő, amely „Nagyon ritka biotípus” eredményt ad, tekintse át a LabPro szoftvert (Utilities (Eszközök)>System (Rendszer)>Biotype Lookup (Biotípus kikeresése)), vegye igénybe a Beckman Coulter weboldalán található Biotype Lookup szolgáltatás lehetőséget, vagy forduljon a területileg illetékes forgalmazóhoz.

A MÓDSZER KORLATAI

1. Az M7-A7 jelű CLSI dokumentum a kényes *Streptococcus*ok esetében lizált lóvérral kiegészített Mueller–Hinton-táptalattal alkalmazását javasolja. A MicroScan szárított Gram-pozitív panel esetén alkalmazott eljárás eltér az itt taglaltól.

A növekedésvizsgálati cellában észlelt nem megfelelő növekedés érvényteleníti a biokémiai eredményeket; azok meghatározására alternatív módszert kell alkalmazni.

2. Anaerob baktériumok – A poz. azonosító panel nem alkalmas anaerob Gram-pozitív coccusok vizsgálatára.
3. Ha az azonosítás eredményének valószínűsége kicsi (< 85%), a végső azonosításhoz további tesztekre lehet szükség (lásd MicroScan Biotype Lookup Program aerob Gram-pozitív mikroorganizmusokhoz vagy Microbiology Manual (Mikrobiológiai kézikönyv)).
4. A teszteredményeket megfelelő gyakorlattal rendelkező klinikai szakembereknek kell kiértékelniük (értelmezniük), akik ismereteik és szükség esetén további megerősítő tesztek alapján el tudják dönteni, hogy egy adott mikroorganizmus azonosításának eredménye elfogadható-e.
5. Egyazon betegről származó különféle mintákból izolált törzsek fenotípus alapján történő azonosításához nem használható a biotípusok száma.
6. A vankomicinrezisztens *E. faecium* és az *E. gallinarum* a motilitás és pigmenttermelés alapján különböztethető meg egymástól. Lásd Additional Test Table (Kiegészítő tesztábrázlat), Microbiology Manual (Mikrobiológiai kézikönyv).

VÁRT ÉRTÉKEK

A biokémiai szubsztrátokkal kapcsolatos várt értékek a Microbiology Manual (Mikrobiológiai kézikönyv) Percent Chart (Százalékos táblázat) táblázatában szerepelnek.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Az azonosító tápközegek elfogadhatóságát ellenőrizni kell olyan mikroorganizmusok vizsgálatával, amelyek válaszreakciói ismertek. Az ajánlott American Type Culture Collection (ATCC) kontroll-mikroorganizmusok eredményei az alábbi táblázatban találhatók.*

Száritott Gram-pozitív azonosítási szubsztrátok minőség-ellenőrzési táblázata

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	n.a.	n.a.
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	n.a.
NOV ²	-	n.a.	-	n.a.
PGR ²	-	-	-	n.a.
IDX	+	n.a.	n.a.	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	n.a.
PHO	+	n.a.	-	n.a.
BE	-	+	+	n.a.
PYR	n.a.	+	-	n.a.
ARG	+	+	-	n.a.
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	n.a.
MAN	+	+	+	-
LAC	+	n.a.	+	-
TRE	n.a.	+	+	-
MNS	n.a.	+	+	-
NACL	n.a.	+	-	n.a.
SOR	n.a.	+	-	n.a.
ARA ²	n.a.	-	-	n.a.
RBS	n.a.	+	-	n.a.
INU	n.a.	-	+	n.a.
RAF	n.a.	-	+	n.a.
BAC ²	n.a.	+	+	n.a.
PRV	n.a.	+	-	n.a.

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Az egyes biokémiai vegyületek további pozitív vagy negatív reakcióinak leírása szükség esetén megtalálható az Additional Test Table (Kiegészítő tesztábrázlat) dokumentumban.

3. Lehet, hogy 24 órányi inkubációt igényel.

n.a. = Nem alkalmazható

MEGJEGYZÉS: A minőség-ellenőrzési mikroorganizmusokat úgy választották ki, hogy pozitív/negatív reakciókat adjanak minden azonosító szubsztrátra. Ennek eredményeként a mikroorganizmus-azonosítás eltérhet a minőség-ellenőrzési

*American Type Culture Collection (Amerikai típusú törzsgyűjtemény), Manassas, VA USA.

táblázatban feltüntetettéktől. A termékteljesítmény elfogadhatóságát nem azonosítással, hanem a teszteredmények összehasonlításával kell meghatározni.

Kiegészítő tesztábrázat

Mikroorganizmus	Szubsztrát	Várt eredmény
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

MINŐSÉGI JELLEMZŐK

Azonosító

A MicroScan szárított, 3-as típusú, Gram-pozitív panel teljesítményjellemzőinek meghatározása szárított, 2-es típusú, Gram-pozitív panel alkalmazásával, multicentrikus vizsgálat keretében történt. A klinikai izolátumok és törzsek vizsgálatát szárított, 3-as típusú poz. azonosító panellel és hagyományos mintacsöves módszerrel végezték, hogy képviselve legyen a rutin klinikai laboratóriumban várható baktériumpopuláció-típus. Az adatbázisban szereplő mikroorganizmusok teljes listáját lásd a MicroScan System Microbiologics Information Manual (A MicroScan rendszer mikrobiológiai információs kézikönyve) dokumentumban (4. szakasz: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria (Hagyományos szárított pozitív panelek: Gram-pozitív aerob baktériumok)).

A szárított, 3-as típusú azonosító panel *Micrococcaceae* eredményei mind a fajszintű, mint pedig a csoportszintű azonosításnak megfeleltek az izolátumok 97,5%-a (157/161) esetében. Az izolátumok mindössze 5,6%-a (9/161) esetében volt szükség további tesztekre a kis valószínűségű fajszintű vagy csoportszintű azonosítás megerősítéséhez.

A szárított, 3-as típusú, pozitív azonosító panel *Streptococcaceae*-eredményei 91,3%-os (230/252) fajszintű egyezést, és 92,1%-os (232/252) csoportszintű egyezést mutattak. Az izolátumok mindössze 14,3%-a (36/252) esetében volt szükség további vizsgálatokra a kis valószínűségű fajazonosítás megerősítése érdekében, és 4,4%-a (11/252) esetében volt szükség a kis valószínűségű csoportazonosítás megerősítésére.

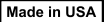
JÓTÁLLÁSI NYILATKOZAT

A rendszerre, illetve reagenseire a vonatkozó szerződéses megállapodásban szereplő garanciális rendelkezések vonatkoznak. A rutin megelőző karbantartási eljárások elvégzése az ügyfél felelősége. Az ezen karbantartási eljárások feltüntetett időtartamon belüli 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
②	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
LOT	Tétel kód	A tétel vagy a sarzs beazonosítására szolgáló gyártói tételkódot jelöli.	ISO 15223-1; 5.1.5
REF	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

Szimbólumok listája

Szimbólum	Szimbólum megnevezése	Standard leírása	Standard
	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
	In vitro diagnosztikai alkalmazásra szolgáló gyógyászati eszköz	Olyan gyógyászati eszközt jelöl, amely in vitro 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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Podręcznik proceduralny identyfikacji typu 3 bakterii Gram-dodatnich)

REF B1017-221

ZASTOSOWANIE

Do stosowania z panelami MicroScan typu 3 do identyfikacji wysuszonych bakterii Gram-dodatnich. Panele MicroScan typu 3 do identyfikacji wysuszonych bakterii Gram-dodatnich są przeznaczone do stosowania w określaniu identyfikacji do poziomu gatunku szybko rosnących tlenowych i względnie beztlenowych ziarniaków Gram-dodatnich, niektórych tlenowych ziarniaków Gram-dodatnich o wysokich wymaganiach odżywczych i *Listeria monocytogenes*. W przypadku oznaczania paciorkowców o wysokich wymaganiach wzrostowych należy zapoznać się z rozdziałem dotyczącym ograniczeń procedury.

OMÓWIENIE I ZASADA DZIAŁANIA

Zmodyfikowane testy konwencjonalne i chromogeniczne używane są w celu identyfikacji *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* i *Listeria monocytogenes*. Identyfikacja jest oparta na wykrywaniu zmiany pH, wykorzystaniu substratu i wzrostu w obecności środków przeciwbakteryjnych po 16–44 godzinach inkubacji w temperaturze 35°C.^{1,2,3,4,5,6,7}

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
2. Przy wykonywaniu wszystkich procedur ze szczególnym uwzględnieniem kwestii, że inokulowane panele zawierają potencjalnie chorobotwórcze drobnoustroje, należy stosować techniki aseptyczne i środki ostrożności wymagane podczas pracy z organizmami potencjalnie patogennymi.
3. Materiał ten zawiera czynniki zakaźne i należy go usuwać zgodnie z zasadami usuwania niebezpiecznych odpadów biologicznych.
4. Wyniki analizy systemu zawsze należy interpretować w połączeniu z wywiadem medycznym pacjenta, jego obrazem klinicznym i innymi czynnikami o znaczeniu diagnostycznym.
5. Studzienki wzrostowe i OPT zawierają 0,005% krystalicznej heminy bydlęcej.

PRZECHOWYWANIE

Panele wysuszonych bakterii Gram-dodatnich należy przechowywać w temperaturze 2–25°C.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Substancja niesklasyfikowana jako niebezpieczna



Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie
techdocs.beckmancoulter.com

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Długotrwałe przechowywanie w warunkach innych niż zalecane może powodować hydrolizę substratów identyfikacyjnych. Nie używać po upływie terminu ważności. W celu uzyskania szczegółowych wskazówek należy zwrócić się do lokalnego przedstawiciela lub dystrybutora firmy Beckman Coulter.

POBIERANIE I PRZYGOTOWY-WANIE PRÓBEK

Odpowiednie próbki powinny być pobierane, transportowane i posiewane na podstawowych podłożach selektywnych zgodnie z procedurami zalecanymi w dokumencie *Manual of Clinical Microbiology* (Podręcznik mikrobiologii klinicznej).⁸

MATERIAŁY DOSTARCZONE

Identyfikacja dodatnia typu 3 (B1017-221)

Procedura ręczna

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Wzorzec zmętnienia 0,5 w skali McFarlanda

0,5% N,N-dimetylo-alfa-naftyloamina, 30 mL (B1010-45A) lub 250 mL (B1015-45)

0,8% kwas sulfanilowy, 30 mL (B1010-44A) lub 250 mL (B1015-44)

Pipetor 100 µL z jednorazowymi końcówkami sterylnymi

5% alfa-naftol, 30 mL (B1010-42A)

40% wodorotlenek potasu, 30 mL (B1010-43A) lub 250 mL (B1015-43)

Tace pokrywowe (B1010-56B)

Ogólne wyposażenie laboratoryjne

Zestaw do inokulacji D (B1013-4)

Woda inokulacyjna, 3 mL (B1015-2)

Woda inokulacyjna zawierająca środek PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Przeglądarka mikrorozcieńczeń

Olej mineralny, 60 mL (B1010-40)

Olej mineralny, 250 mL (B1010-40A) — WYŁĄCZNIE do stosowania z analizatorami WalkAway SI i WalkAway plus (oraz systemami z funkcją automatycznego nakładania oleju WalkAway)

System Prompt® (B1026-10D)**

Drobnoustroje wzorcowe (zob. rozdział dotyczący kontroli jakości w tej instrukcji)

Odczynnik peptydazowy, 30 mL (B1012-30B) lub 250 mL (B1015-30)

Zestaw pipet do wkraplania odczynników (B1013-12A)

Zestaw do powtórnego uwadniania / inokulacji RENOK (B1018-14) lub odpowiednik

Miernik zmętnienia

Wytrząsanie

Papier do drukowania etykiet z kodami kreskowymi (B1018-129)

Pokrywy na tace WalkAway (B1018-18)

PROCEDURA

Przygotowanie paneli

- Wyjąć panele z miejsca przechowywania. **Nie należy stosować paneli w następujących sytuacjach:**
 - Brak jest pochłaniacza wilgoci lub jest on uszkodzony.
 - Zabarwienie studzienek panelu jest nieprawidłowe (np. PHO).
 - Opakowanie jest uszkodzone (otwarte, przekłute lub rozerwane).
- Rozciąć torebkę i wyjąć panel. Jeżeli panel był przechowywany w lodówce, należy natychmiast wyjąć go z foliowej torebki. Przed powtórnym uwodnieniem panele powinny osiągnąć temperaturę pokojową. Panele można ustawiać jeden na drugim, umieszczając przezroczystą pokrywkę na górze każdego z nich. Wszystkie otwarte panele należy wykorzystać tego samego dnia lub wyrzucić.

Identyfikacja dodatnia typu 3

Substraty identyfikacyjne	Skrót	Substraty identyfikacyjne	Skrót
Fiolet krystaliczny	CV	Mocznik	URE
Studzienki z mikrokokami	MS	Mannitol	MAN
Azotan	NIT	Laktoza	LAC
Nowobiocyna	NOV	Trehaloza	TRE
PNP-β-D-glukuronid	PGR	Mannoza	MNS
Fosfataza indoksylova	IDX	Chlorek sodu 6,5%	NACL
Test Vogesa-Proskauera	VP	Sorbitol	SOR
Optochina	OPT	Arabinoza	ARA
Fosfataza	PHO	Ryboza	RBS
Żółć i eskulina 40%	BE	Inulina	INU
β-naftylamid-L-pirolidonylu	PYR	Rafinoza	RAF
Arginina	ARG	Bacytracyna	BAC
PNP-β-D-galaktopiranozyd	PGT	Pirogronian	PRV

Przygotowanie inokulum

CLSI zaleca okresowe sprawdzanie gęstości inokulum metodą liczenia kolonii. Szczegóły w dokumencie CLSI M7-A7 w części 10.3.1.3 dotyczącej zaleceń co do liczenia kolonii. Oczekiwane wyniki dla szczepu *E. coli* ATCC 25922 powinny być bardzo zbliżone do wartości 5×10^5 CFU/mL dla końcowego stężenia badanego.⁹ Użytkownik powinien zwrócić szczególną uwagę na sporządzenie inokulum, zwłaszcza w przypadku stosowania metod manualnych, zależnych od techniki, takich jak system Prompt, lub inokulum wykonanego bez pomocy urządzenia fotometrycznego.

Uwaga: produkty MicroScan nie umożliwiają stosowania technik fazy stacjonarnej i wzrostu logarytmicznego.

- Technika wzorca zmętnienia** — *podstawowa metoda inokulacji*

Technika wzorca zmętnienia jest zalecana do bezpośredniej inokulacji wszystkich tlenowych ziarniaków Gram-dodatnich.

*Środki powierzchniowo czynne PLURONIC®, zarejestrowany znak towarowy BASF Corporation, Parsippany, NJ USA

**3M, St. Paul, MN USA

- A. Za pomocą sterylnej wymazówki, ezy lub wacika należy dotknąć powierzchni 4–5 dużych lub 5–10 małych, podobnych morfologicznie, dobrze izolowanych kolonii na podłożu agarowym bez środków hamujących wzrost drobnoustrojów, inkubowanych przez 18–24 godziny.
- B. Emulsyfikować bakterie w 3 mL wody inokulacyjnej (woda dejonizowana sterylizowana w autoklawie). Końcowe zmętnienie zawiesiny powinno odpowiadać wzorcowi zmętnienia 0,5 w skali McFarlanda. Równoważną mętność można uzyskać przy pomocy miernika zmętnienia MicroScan w zakresie $0,08 \pm 0,02$. Dokładnie zamknąć.
- C. Wytrząsać zawiesinę przez 2–3 sekundy.
- D. Przenieść 0,1 mL (100 μ L) standaryzowanej zawiesiny do 25 mL wody inokulacyjnej zawierającej środek PLURONIC. Szczelnie zamknąć. Wymieszać, odwracając probówkę 8–10 razy.

2. System Prompt

System Prompt może być wykorzystany w przypadku większości szybciej rosnących ziarniaków Gram-dodatnich. W celu właściwego zastosowania systemu Prompt należy zapoznać się z dokumentem Prompt Inoculation Procedural Manual (Instrukcja procedur dotyczących systemu inokulacji Prompt).

Uwaga: Stosować z zachowaniem ostrożności. W przypadku drobnoustrojów, których kolonie nie osiągnęły odpowiedniej wielkości, można uzyskać zbyt niskie inokulum. Niedostateczna inokulacja może spowodować nieprawidłową identyfikację wyników testów.

Powtórne uwodnienie/inokulacja panelu

Powtórne uwodnienie i inokulacja panelu są przeprowadzane za pomocą systemu RENOK z inokulatorami-D (B1013-4). Szczegóły można znaleźć w dokumencie RENOK Operator's Manual (Podręcznik użytkownika systemu RENOK). Jeżeli stosowany jest inny system, należy zawartość studzienki powtórnie uwodnić za pomocą $115 + 10 \mu\text{L}$ wody inokulacyjnej (PLURONIC). Musi być osiągnięte końcowe stężenie w studzience na poziomie $3\text{--}7 \times 10^5 \text{ CFU/mL}$.

W celu potwierdzenia żywotności i czystości badanych drobnoustrojów należy przygotować posiew redukcyny przez rozprowadzenie inokulum na odpowiednim podłożu agarowym i inkubację w odpowiednich warunkach. Jeżeli na płytce (podłożu) występują co najmniej dwa rodzaje kolonii, należy je ponownie wyizolować i powtórzyć badanie.

Nakładanie na testy biochemiczne

1. Za pomocą zakraplacza pokryć studzienki ARG i URE co najmniej 3 kroplami oleju mineralnego. (Studzienki te są podkreślone na panelu.)
2. Podłoże w studzienkach musi być w pełni pokryte olejem mineralnym, jednakże olej nie powinien z nich wypływać.

Uwaga: analizatory WalkAway SI i WalkAway plus (oraz analizatory WalkAway z dodatkową opcją automatycznego nakładania oleju) automatycznie dodają olej do właściwych studzienek.

Inkubacja

1. Panele można inkubować w systemie WalkAway lub zewnątrz w następujący sposób:
 - A. Aby zapewnić równomierną dystrybucję ciepła w trakcie inkubacji, panele należy ustawić w grupach jeden na drugim po 3–5 sztuk.
 - B. Umieścić przezroczystą pokrywkę na górze każdej grupy paneli, aby zapobiec parowaniu. Pokrywek można używać wielokrotnie. Nie wolno odkażać pokrywek alkoholem. Można je czyścić wodą z mydłem. Należy je dobrze opłukać i pozostawić do wyschnięcia na powietrzu.
 - C. Inkubować panele przez 16–20 godzin w temperaturze 35°C w inkubatorze niezawierającym CO_2 .

Odczyt z paneli

Panele mogą być odczytywane przy użyciu przeglądarki mikrorozcieńczeń MicroScan, a wyniki rejestrowane w Manual Panel Worksheet (na arkuszu roboczym panelu manualnego) (zobacz część Materiały wymagane, ale niedostarczone niniejszego podręcznika procedury) lub na analizatorach MicroScan (systemy touchSCAN-SR, autoSCAN-4 i WalkAway). Szczegóły dotyczące odczytu paneli przy pomocy analizatorów MicroScan znajdują się we właściwych instrukcjach obsługi.

1. Panele należy wyjąć z inkubatora po 16–20 godzinach inkubacji.
2. Wytrzeć spód panelu niestrzępiącą się ściereczką w celu usunięcia wszystkich możliwych skroplin i zanieczyszczeń.
3. Panele można odczytywać tylko wówczas, gdy studzienka kontrolna jest przezroczysta, a studzienka wzrostu jest mętna. Zmętnienie może przyjąć formę białego zamglenia na całej powierzchni studzienki, białego punktu w jej środkowej części lub wyraźnego wzrostu ziarnistego w całej objętości. Za niewystarczający uważa się wzrost w postaci lekkiego zabielenia studzienki oraz sytuację, kiedy bulion jest przezroczysty.
4. Jeżeli wyniki są odczytywane ręcznie, należy zapisać je we właściwym arkuszu roboczym.
5. Odczytywanie substratów identyfikacyjnych
 - A. Odczytać wyniki dla wszystkich substratów identyfikacyjnych wobec białego tła, z wyjątkiem CV, MS, NOV, OPT, NACL i BAC, które powinny być odczytane na czarnym tle (oświetlonym niebezpośrednio).
 - B. Wyniki IDX i PHO należy odczytać po 16–20 godzinach inkubacji.

- C. Panele PGT-ujemne i zawierające mniej niż 3 dodatnie testy dla wodorowęglanów powinny być powtórnie inkubowane przez dodatkowe 24 godziny przed końcowym odczytem i identyfikacją.
- D. Po 16–20 godzinach inkubacji należy dodać odczynniki wyłącznie do paneli, które mają dodatnie 3 testy dla wodorowęglanów lub wykazują dodatnią reakcję PGT. Po 40–44 godzinach inkubacji należy dodać odczynniki niezależnie od liczby dodatnich testów.
- E. Przed dodaniem odczynników należy zapisać wszystkie dodatnie reakcje.
- F. Dodać odczynniki jak poniżej:
- Do studzienki VP dodać 1 kroplę 40% wodorotlenku potasu (KOH) i 1 kroplę 5% alfa-naftolu. Przed odczytem należy odczekać co najmniej 20 minut na reakcję VP.
 - Do studzienki NIT dodać po 1 kropli 0,8% kwasu sulfanilowego i 0,5% N,N-dimetylo-alfa-naftyloaminy. Przed odczytem należy odczekać co najmniej 5 minut na reakcję NIT.
 - Do studzienki PYR dodać 2 krople odczynnika peptydazowego. Odczekać 2 minuty przed odczytem.
- G. W celu interpretacji reakcji biochemicznych należy zapoznać się z rozdziałem WYNIKI.

WYNIKI

1. Interpretacja testów biochemicznych

Studzienka	Odczynnik	Dodatni	Ujemny
CV MS NOV OPT NACL BAC		Wzrost	Brak wzrostu
NIT	Dodać 1 kroplę 0,8% kwasu sulfanilowego i 1 kroplę 0,5% N,N-dimetylo-alfa-naftyloaminy. Odczekać co najmniej 5 minut, aż dojdzie do reakcji.	Od różowego do czerwonego	Przezroczysty (bezbarwny) możliwy bardzo blady różowy
PGR PHO PGT	Każdy odcień żółtego należy interpretować jako wynik dodatni. Używać studzienki NOV jako kontroli ujemnej.	Żółty	Przezroczysty (bezbarwny)
IDX		Od niebieskiego do szarego/osad	Przezroczysty (bezbarwny) lub biały osad
VP	Dodać 1 kroplę 40% KOH i 1 kroplę 5% alfa-naftolu. Odczekać co najmniej 20 minut, aż dojdzie do reakcji.	Od różowego do czerwonego	Przezroczysty (bezbarwny) do brązowego. Możliwy mętny lub bardzo blady różowy
BE		Od ciemnego brązu do czarnego	Przezroczysty (bezbarwny) do jasnobrązowego
PYR	Dodać 2 krople odczynnika peptydazowego. Odczekać co najmniej 2 minuty, aż dojdzie do reakcji.	Czerwony / od pomarańczowego do czerwonego	Żółty do pomarańczowo-czerwonego
ARG		Różowy / od pomarańczowego do różowego	Od żółtego do pomarańczowego
URE		Różowy	Od żółtego do pomarańczowego
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Jakąkolwiek obecność koloru pomarańczowego należy traktować jako wynik ujemny.	Żółty	Od pomarańczowego do czerwonego
HEM		Beta	Alfa lub gamma
LOC	Wyłącznie w przypadku systemów rozpoznawania paneli autoSCAN-4 i WalkAway.		

Identyfikacja wysuszonych bakterii Gram-dodatnich — poprawiona QC identyfikacji ¹					
Drobnoustrój QC	Numer ATCC	Główny substrat wskaźnikowy	Wynik oczekiwany	Wynik poza zakresem specyfikacji	Substrat labilny
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Tak

1. Główne wskaźniki do kontroli jakości są podane dla poprawionej QC w dokumencie CLSI M50-A.¹⁰ Przed wprowadzeniem poprawionej QC należy sprawdzić szczegóły w dokumencie M50-A oraz uzyskać akceptację odpowiednich instytucji zajmujących się kontrolą i inspekcją.

2. Zasady reakcji identyfikacyjnych

Fiolet krystaliczny (CV): Wzrost w obecności niskich stężeń fioletu krystalicznego jest wykorzystywany do odróżnienia paciorkowców (dodatni) od gronkowców (przeważnie brak wzrostu — wynik ujemny).

Różnicowanie mikrokoków (MS): Wzrost w obecności niskich stężeń bacytracyny (0,05 µg/mL) jest wykorzystywany do odróżnienia gronkowców (dodatni) od mikrokoków (ujemny).

Azotany (NIT): Redukcja azotanu do azotynu jest wykrywana przez wytworzenie czerwonego zabarwienia po dodaniu 0,8% kwasu sulfanilinowego i 0,5% N,N-dimetylo-alfa-naftyloaminy. Paciorkowce są azotano-ujemne, podczas gdy większość gronkowców jest azotano-dodatnia.

Nowobiocyna (NOV): Oporność na niskie stężenia (1,6 µg/mL) nowobiocyny jest charakterystyczna dla niektórych gronkowców.

Glikozydazy (PGR, PGT): Zdolność drobnoustrojów do wytwarzania swoistego enzymu glikozydazy jest wykrywana w reakcji rozkładu kompleksu p-nitrofenilo-węglowodanu, co prowadzi do uwolnienia p-nitrofenolu o żółtym zabarwieniu.

Fosfataza indoksylova (IDX): Hydroliza fosforanu indoksyłu przez enzym fosfatazę indoksylową prowadzi do uwolnienia nierozpuszczalnego, niebieskiego składnika. Większość gronkowców koagulazo- i DNazo-dodatnich jest IDX-dodatnia.

Odczynnik Voges-Proskauera (VP): Acetylometylokarbinol, wytworzony z glukozy, reaguje z 40% wodorotlenkiem potasu i 5% alfa-naftolem, powodując czerwone zabarwienie.

Optochina (OPT): Wrażliwość na optochinę jest charakterystyczna dla *Streptococcus pneumoniae*. Wzrost innych paciorkowców i gronkowców nie jest hamowany przez optochinę.

Fosfataza (PHO): Fosfataza alkaliczna rozkłada fosforan p-nitrofenylu na fosforan nieorganiczny i p-nitrofenol, który ma żółte zabarwienie.

Eskulina żółci (BE): Drobnoustroje zdolne do wzrostu w 40% żółci i hydrolizujące eskulinę są wykrywane przez wytworzenie czarnego osadu, powstającego w reakcji produktu hydrolizy, eskuletyny, z cytrynianem żelaza. Paciorkowce grupy D, niektóre paciorkowce zieleniejące i niektóre gronkowce są BE-dodatnie.

Pirolidonylo-β-naftyloamid (PYR): Drobnoustroje wytwarzające pirolidonazę rozkładają L-pirolidonylo-β-naftyloamid na L-pirolidon i β-naftyloaminę, która wchodzi w reakcję z odczynnikiem peptydazowym (aldehyd p-dimetylo-aminocynamonowy), powodując czerwone zabarwienie.

Arginina (ARG): Odwodnienie argininy prowadzi do alkalizacji środowiska, co wykrywane jest jako zmiana barwy wskaźnika — czerwieni fenolowej — z żółtej na czerwoną.

Mocznik (URE): Enzym ureaza rozkłada mocznik do amoniaku. Wzrost pH w wyniku tej reakcji jest wykrywany przez czerwień fenolową.

Węglowodany (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): Fermentacja swoistych węglowodanów prowadzi do wytworzenia kwasów. Spadek pH w wyniku tej reakcji jest wykrywany przez wskaźnik — czerwień fenolową, która zmienia barwę na żółtą.

6,5% NaCl (NACL): Tolerancja na 6,5% chlorek sodu jest obserwowana jako wzrost bakterii. Tolerancja soli jest wykorzystywana w różnicowaniu enterokoków od innych paciorkowców.

Bacytracyna (BAC): Wrażliwość na niskie stężenia bacytracyny jest obserwowana jako brak wzrostu i jest charakterystyczna dla *Streptococcus pyogenes*.

Pirogronian (PRV): Wykorzystanie pirogronianu prowadzi do wytworzenia kwasu. Wynikający z tego spadek pH jest wykrywany przez wskaźnik — czerwień fenolową, która zmienia barwę na żółtą.

Hemoliza (HEM): Streptolizyny S i O, wytwarzane przez paciorkowce, powodują całkowitą lub częściową lizę krwinek czerwonych w agarze zawierającym krew baranią.

3. Identyfikacja drobnoustroju

Do identyfikacji badanych drobnoustrojów służy książka kodów MicroScan Biotype Lookup Program dla wysuszonych bakterii Gram-dodatnich. Program ten został wygenerowany z własnej bazy danych MicroScan. Funkcja Lookup Program dla bakterii Gram-dodatnich dostarcza do analizy komputerowej 27 testów dla *Streptococcaceae* i 18 testów dla *Micrococcaceae*. Testy te są tłumaczone na odpowiednio 9- lub 6-cyfrowy numer biotypu. Szczegóły dotyczące metody zapisywania wyników znajdują się w programie. W programie przedstawiona jest lista identyfikowanych drobnoustrojów i względne prawdopodobieństwo identyfikacji. Wszystkie możliwości są wymienione w kolejności najwyższego prawdopodobieństwa aż do sumarycznego prawdopodobieństwa 99,9%. Program jest podzielony na 2 części: *Micrococcaceae* i *Streptococcaceae*.

W razie pojawienia się biotypu oznaczającego bardzo rzadki biotyp („Very Rare Biotype”) należy zapoznać się z informacjami dostępnymi w programie LabPro (Utilities (Narzędzia) > System (System) > Biotype Lookup (Wyszukiwanie biotypu)), w usłudze Biotype Lookup na stronie internetowej firmy Beckman Coulter albo skontaktować się z lokalnym dystrybutorem.

OGRANICZENIA METODY

1. W dokumencie CLSI M7-A7 do badania paciorkowców o wysokich wymaganiach wzrostowych zaleca się wzbogacenie bulionu Mueller-Hinton hemolizowaną krwią końską. Procedura dla paneli MicroScan dla wysuszonych bakterii Gram-dodatnich różni się od tego zalecenia. Jeżeli wzrost w studzience wzrostu jest niewystarczający, wyniki testów biochemicznych nie są ważne i należy zastosować inną metodę.
2. Bakterie beztlenowe — panel identyfikacji dodatniej nie jest odpowiedni do badania beztlenowych ziarniaków Gram-dodatnich.
3. Do końcowej identyfikacji przy uzyskaniu wyniku o niskim prawdopodobieństwie (< 85%) mogą być wymagane dodatkowe testy (szczegóły w programie wyszukiwania biotypów MicroScan Biotype Lookup Program dla tlenowych drobnoustrojów Gram-dodatnich lub w dokumencie Microbiology Manual (Podręcznik mikrobiologii)).
4. Przed zaakceptowaniem identyfikacji wyniki testu drobnoustroju powinien interpretować wykwalifikowany personel kliniczny na podstawie własnych opinii, wiedzy i wyników ewentualnych dodatkowych badań.
5. Numery biotypu nie powinny być używane do identyfikacji fenotypowej szczepów izolowanych z różnych próbek pobieranych od tego samego pacjenta.
6. Oporne na wankomycynę szczepy *E. faecium* można odróżnić od *E. gallinarum* w testach ruchliwości i wytwarzania barwnika. Więcej informacji można znaleźć w tabeli testów dodatkowych w dokumencie Microbiology Manual (Podręcznik mikrobiologii).

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Wartości oczekiwane dla substratów biochemicznych można znaleźć w Percent Chart (Karcie procentowej) w dokumencie Microbiology Manual (Podręcznik mikrobiologii).

KONTROLA JAKOŚCI

Dopuszczalność podłoży identyfikacyjnych należy sprawdzać przez badanie drobnoustrojów za pomocą znanych reakcji. Wyniki dla zalecanych drobnoustrojów kontrolnych American Type Culture Collection (ATCC) są przedstawione w poniższej tabeli.*

Tabela kontroli jakości substratów identyfikacyjnych w teście Dried Gram Pos

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	ND.	ND.
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	ND.
NOV ²	-	ND.	-	ND.
PGR ²	-	-	-	ND.
IDX	+	ND.	ND.	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	ND.
PHO	+	ND.	-	ND.
BE	-	+	+	ND.
PYR	ND.	+	-	ND.
ARG	+	+	-	ND.
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	ND.
MAN	+	+	+	-
LAC	+	ND.	+	-
TRE	ND.	+	+	-
MNS	ND.	+	+	-
NACL	ND.	+	-	ND.
SOR	ND.	+	-	ND.
ARA ²	ND.	-	-	ND.
RBS	ND.	+	-	ND.
INU	ND.	-	+	ND.
RAF	ND.	-	+	ND.
BAC ²	ND.	+	+	ND.
PRV	ND.	+	-	ND.

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Aby uzyskać więcej informacji o dodatkowych dodatnich lub ujemnych reakcjach biochemicznych, należy zapoznać się z tabelą testów dodatkowych.

3. Może wymagać 24 godzin inkubacji.

ND. = nie dotyczy

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

UWAGA: drobnoustroje do kontroli jakości są wybrane w celu zapewnienia dodatnich/ujemnych reakcji dla wszystkich substratów identyfikacyjnych. W związku z tym identyfikacje drobnoustrojów mogą różnić się od przedstawionych w karcie kontroli jakości (QC). Dopuszczalność skuteczności produktu powinna być określana na podstawie porównania wyników testu, a nie identyfikacji.

Tabela testów dodatkowych

Drobnoustrój	substrat	Wynik oczekiwany
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Identyfikacja

Charakterystyka paneli MicroScan typu 3 dla wysuszonych bakterii Gram-dodatnich została opracowana na podstawie badania wieloośrodkowego z użyciem paneli typu 2 dla wysuszonych bakterii Gram-dodatnich. Izolaty kliniczne i szczepy komercyjne były badane na panelach do identyfikacji dodatniej typu 3 wysuszonych bakterii i konwencjonalną metodą próbówkową, reprezentując typy populacji bakteryjnych, jakie można spotkać w codziennej praktyce w laboratorium klinicznym. Pełną listę drobnoustrojów znajdujących się w bazie danych można znaleźć w instrukcji MicroScan System Microbiology Information Manual (Section 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria) (Podręcznik systemu informacji mikrobiologicznej MicroScan [Rozdział 4: Panele konwencjonalne do wykrywania wysuszonych tlenowych bakterii Gram-dodatnich]).

Wyniki badań *Micrococcaceae* przy pomocy panelu do identyfikacji dodatniej typu 3 wysuszonych bakterii były zgodne zarówno na poziomie gatunku, jak i grupy w 97,5% (157/161) izolatów. Jedynie 5,6% (9/161) izolatów wymagało dodatkowych testów w celu potwierdzenia identyfikacji o niskim prawdopodobieństwie na poziomie gatunków lub grup.

Wyniki badań *Streptococcaceae* przy pomocy panelu Dried Pos ID Type 3 były zgodne na poziomie gatunku w 91,3% (230/252), a na poziomie grupy w 92,1% (232/252). Jedynie 14,3% (36/252) izolatów wymagało dodatkowych testów w celu potwierdzenia identyfikacji o niskim prawdopodobieństwie na poziomie gatunku, a 4,4% (11/252) izolatów wymagało dodatkowych testów w celu potwierdzenia identyfikacji o niskim prawdopodobieństwie na poziomie grupy.

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
	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
	Kod partii	Wskazuje kod partii producenta, dzięki któremu można zidentyfikować partię lub serię.	ISO 15223-1; 5.1.5
	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 odczytników).	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
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual(그람 양성 절차 설명서)

[REF] B1017-221

사용목적

MicroScan 건조 그람 양성 ID 타입 3 패널과 함께 사용됩니다. MicroScan 건조 그람 양성 ID 타입 3 패널은 빠르게 증식하는 호기성 및 조건성 그람 양성 구균, 일부 까다로운 호기성 그람 양성 구균 및 *Listeria monocytogenes*의 종 레벨에 대한 동정을 결정하는 데 사용되도록 제작되었습니다. 배양이 까다로운 연쇄상구균에 사용하는 경우 검사 절차의 한계 섹션을 참조하십시오.

요약 및 원리

변형된 기존 검사 및 발색 검사가 *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* 및 *Listeria monocytogenes*의 동정에 사용됩니다. 동정은 35°C에서 16~44시간 배양 후 pH 변화의 검출, 기질 이용, 항균제 존재 하의 증식을 기반으로 합니다.^{1,2,3,4,5,6,7}

경고 및 주의 사항

1. *체외* 진단용으로만 사용하십시오.
2. 모든 절차를 진행하는 동안 미생물학적 위험을 방지하기 위한 무균 기법과 확립된 예방 조치를 준수하고, 접종된 패널에 병원성균이 있을 수 있음을 특히 주의하십시오.
3. 이 물질은 감염원을 함유하고 있으므로 생물학적 위해 폐기물에 적합한 방법으로 폐기되어야 합니다.
4. 본 검사의 결과는 환자의 병력, 임상적 양상 및 다른 발견 사항들과 함께 해석되어야 합니다.
5. 증식 및 OPT 웰에는 0.005 %의 소의 헤민 결정이 포함되어 있습니다.

보관

건조 그람 양성 패널은 2~25°C에서 보관해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

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

성능 저하 증거

권장되지 않는 보관 조건에 장기간 노출될 경우 동정 기질의 가수 분해가 발생할 수 있습니다. 유효기한이 지난 경우 사용하지 마십시오. 추가적인 도움이 필요한 경우에는 Beckman Coulter 담당자 또는 대리점에 문의하십시오.

검체 수집 및 준비

Manual of Clinical Microbiology(임상 미생물학 설명서)에서 권장하는 절차에 따라 적합한 표본을 채취하고 운반하여 일차 분리 배지에 놓아야 합니다.*

제공되는 품목

양성 ID 타입 3(B1017-221)

절차 설명서

필요하지만 제공되지 않는 품목

0.5 McFarland Turbidity Standard(McFarland 혼탁도 표준)

0.5 % N, N-디메틸-알파-나프틸아민, 30 mL(B1010-45A) 또는 250 mL(B1015-45)

0.8 % 설파닐산, 30 mL(B1010-44A) 또는 250 mL(B1015-44)

100 µL 피펫터(일회용 멸균 팁 포함)

5 % 알파 나프톨, 30 mL(B1010-42A)

40 % 수산화칼륨, 30 mL(B1010-43A) 또는 250 mL(B1015-43)

커버 트레이(B1010-56B)

일반 검사실 장비

Inoculator-D 세트(B1013-4)

접종물 희석액, 3 mL(B1015-2)

접종물 희석액(PLURONIC 함유)*, 25 mL(B1015-7)*

미량희석 뷰어

미네랄 오일, 60 mL (B1010-40)

*PLURONIC® 계면활성제, BASF Corporation(Parsippany, NJ USA)의 등록 상표

미네랄 오일, 250 mL (B1010-40A) - WalkAway SI 및 WalkAway plus 장비(또한 자동 오일 오버레이 기능으로 업그레이드된 WalkAway 장비) 전용

Prompt® 접종 시스템(B1026-10D)**

정도관리균(이 설명서의 QC 섹션 참조)

펩티다아제 시약, 30 mL(B1012-30B) 또는 250 mL(B1015-30)

시약 점적 키트(B1013-12A)

RENOK 재수화기/접종기(B1018-14) 또는 등급 장비

탁도계

흔들어 섞기

바코드 라벨 용지(B1018-129)

WalkAway 트레이 리드(B1018-18)

절차

패널 준비

1. 사용할 패널을 보관함에서 꺼내십시오. **다음과 같은 경우 패널을 사용해서는 안 됩니다.**
 - A. 건조제가 없거나 손상됨.
 - B. 패널 웰의 변색(예를 들어 PHO).
 - C. 포장의 손상(개봉되어 있거나 구멍이 났거나 찢어짐).
2. 파우치를 잘라 개봉하여 패널을 꺼냅니다. 냉장고에 보관한 경우 호일 파우치에서 패널을 즉시 꺼내십시오. 재수화하기 전에 패널의 온도가 실온과 같아지게 하십시오. 깨끗한 커버 트레이를 위에 놓고 패널을 쌓을 수 있습니다. 개봉한 패널은 모두 당일 사용해야 하며 그렇지 않을 경우 폐기해야 합니다.

양성 ID 타입 3

동정 기질	약어	동정 기질	약어
크리스탈 바이올렛	CV	요소	URE
미구균 선별검사	MS	만니톨	MAN
질산염	NIT	락토스	LAC
노보바이오신	NOV	트레할로스	TRE
PNP-베타-D-글루쿠로니드	PGR	만노스	MNS
인독실 인산분해효소	IDX	염화나트륨 6.5%	NACL
포게스-프로스카우어	VP	소르비톨	SOR
옵토킨	OPT	아라비노스	ARA
인산분해효소	PHO	리보스	RBS
40% 담즙 에스쿨린	BE	이눌린	INU
L-피롤리도닐-베타-나프틸아미드	PYR	라피노스	RAF
아르기닌	ARG	바시트라신	BAC
PNP-베타-D-갈락토피라노시드	PGT	피루브산염	PRV

접종물 준비

CLSI는 집락수 계산을 수행하여 접종물 밀도를 정기적으로 점검할 것을 권장합니다. 집락수 계산 권장사항에 대해서는 CLSI 문서 M7-A7의 10.3.1.3 단원을 참조하십시오. *E. coli* ATCC 25922의 예상 결과는 최종 검사 농도에 대해 대략적으로 5×10^5 CFU/mL여야 합니다.⁹ 사용자는 특히 Prompt 시스템과 같은 방법에 의존하는 수동적 기법의 경우 또는 광도측정 장치를 사용하지 않고 조제된 접종물의 경우 접종물 준비에 주의해야 합니다.

참고: 로그법과 정지상법은 MicroScan 제품에서 지원되지 않습니다.

1. 혼탁도 표준 기법 - 기본 접종법

모든 호기성 그람 양성 구균의 직접 접종에는 혼탁도 표준 기법이 권장됩니다.

- A. 멸균 어플리케이터 스틱, 루프 또는 면봉을 18~24시간 비억제형 한천 배지에서 형태적으로 비슷하고 제대로 분리된 4~5개의 커다란 집락 또는 5~10개의 작은 집락의 표면에 갖다 댍니다.
- B. 3 mL의 접종물 희석액(가압 멸균 탈이온수)에 유화시킵니다. 최종 혼탁도는 0.5 McFarland 혼탁도 표준의 최종 혼탁도와 동일해야 합니다. 동일한 혼탁도는 MicroScan 탁도계를 사용하여 0.08 ± 0.02 범위에서 얻을 수 있습니다. 마개를 단단히 씁니다.
- C. 현탁액을 2~3초 동안 휘저으십시오.

**3M, St. Paul, MN USA

- D. 0.1 mL(100 µL)의 표준화된 현탁액을 피펫을 사용해 25 mL의 PLURONIC 첨가 Inoculum Water에 첨가합니다. 캡을 단단히 닫습니다. 8~10회 뒤집어 혼합합니다.

2. Prompt 시스템

보다 빠르게 증식하는 그람 양성 구균에는 Prompt 시스템을 사용할 수 있습니다. Prompt 시스템의 적절한 사용법은 Prompt 접종 절차 설명서를 참조하십시오.

참고: 주의하여 사용하십시오. 크기 요구사항을 충족하지 않는 균의 경우 저접종이 발생할 수 있습니다. 저접종은 올바른지 않은 동정 검사 결과를 초래할 수 있습니다.

패널 재수화/접종

재수화 및 접종은 RENOK 시스템 Inoculators-D(B1013-4)를 사용하여 수행됩니다. 사용법은 RENOK Operator's Manual for use(RENOK 사용 설명서)를 참조하십시오. 대체 시스템을 사용할 경우, 115 µL + 10 µL의 접종물 희석액(PLURONIC)으로 재수화하십시오. 최종 웰 농도는 $3\sim7 \times 10^5$ CFU/mL여야 합니다.

검사균의 생존력과 순도를 유지하기 위해서 접종물을 적절한 한천 플레이트에 퍼 바르고 적절한 조건에서 배양하여 순수 플레이트를 준비해야 합니다. 순수 플레이트에 두 개 이상의 집락 유형이 존재하는 경우 집락을 재분리하고 재검사하십시오.

생화학적 오버레이

1. 점적 병을 사용하여 최소한 3방울의 미네랄 오일을 떨어뜨려 ARG 및 URE 웰을 포개어 놓으십시오. (이 웰의 패널에는 밑줄이 있습니다.)
2. 웰의 배지를 미네랄 오일로 완전히 덮어야 하지만, 미네랄 오일이 웰에서 넘쳐서는 안 됩니다.

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

배양

1. 패널은 WalkAway 시스템에서 배양하거나 다음 절차를 이용해 오프라인으로 배양할 수 있습니다.
 - A. 배양 중에 고른 열 분산을 위해서 패널을 3~5개의 묶음으로 쌓습니다.
 - B. 각 그룹의 패널 위에 깨끗한 커버 트레이를 놓아 증발을 막습니다. 커버 트레이는 다시 사용할 수 있습니다. 커버 트레이를 알코올로 닦지 마십시오. 비누와 물로 세척할 수 있습니다. 충분히 헹군 후 공기 중에서 말리십시오.
 - C. 패널을 16~20시간 동안 35°C에서 비 CO₂ 배양기에서 배양합니다.

패널 판독

패널은 MicroScan 미세 희석 뷰어를 이용해 수동으로 판독할 수 있고, 결과를 Manual Panel Worksheet(수동 패널 작업 시트)(이 절차 설명서의 제공되지 않는 구성품 단위 참조) 또는 MicroScan 장비(touchSCAN-SR, autoSCAN-4 및 WalkAway 시스템)에 기록할 수 있습니다. MicroScan 장비를 이용한 패널 판독에 대해서는 해당 사용 설명서를 참조하십시오.

1. 16~20시간 배양 후 패널을 배양기에서 꺼냅니다.
2. 패널 바닥을 보풀이 없는 티슈로 닦아 혹시 있을 지도 모를 응결물 또는 잔류물질을 제거하십시오.
3. 정도관리물질 웰이 투명하고 증식 정도관리물질 웰이 혼탁한 경우에만 패널을 판독하십시오. 혼탁도는 웰 전체에 얇은 흰색 연기가 퍼져 있는 형태, 웰 중앙에 흰색 알갱이가 있는 형태 또는 웰 전체에 고운 가루가 퍼져 있는 형태로 나타날 수 있습니다. 증식이 불충분하면 웰 전체에서 얇은 흰색이 보이거나 액체 배지가 투명합니다.
4. 결과가 수동으로 판독된 경우 결과를 적절한 워크시트에 기록하십시오.
5. 동정 기질 판독
 - A. 검은색(간접 조명) 배경에서 판독해야 하는 CV, MS, NOV, OPT, NACL, BAC를 제외하고 모든 동정 기질을 흰색 배경에서 판독하십시오.
 - B. IDX 및 PHO 결과는 16~20시간 배양 후 기록됩니다.
 - C. 음성 PGT 및 3개 미만의 양성 탄수화물이 있는 패널은 최종 판독 및 동정 전에 추가로 24시간 동안 재배양되어야 합니다.
 - D. 3개의 탄수화물 또는 PGT 반응 양성을 갖는 패널에만 16~20시간이 경과할 때 시약을 추가해야 합니다. 40~44시간이 경과할 때 양성 검사 수와 무관하게 시약을 추가하십시오.
 - E. 시약을 추가하기 전에 모든 양성 반응을 기록하십시오.
 - F. 시약을 다음과 같이 추가하십시오.
 - a. 40 % 수산화칼륨(KOH) 1방울과 5 % 알파-나프톨 1방울을 VP 웰에 첨가합니다. 판독 전에 VP 반응이 일어날 때까지 최소 20분 동안 기다립니다.
 - b. 0.8 % 설파닐산 1방울과 0.5 % N, N-디메틸-알파-나프틸아민 1방울을 NIT 웰에 첨가합니다. 판독 전에 NIT 반응이 일어날 때까지 최소 5분 동안 기다립니다.
 - c. 펩티다아제 시약 2방울을 PYR 웰에 첨가합니다. 판독 전에 2분 동안 기다립니다.
 - G. 생화학적 해석에 대한 도움말은 결과 섹션을 참조하십시오.

결과

1. 생화학적 판정

웰	시약	양성	음성
CV MS NOV OPT NACL BAC		증식	비증식
NIT	0.8 % 설펜산 1방울과 0.5 % N, N-디메틸-알파-나프틸아민 1방울을 첨가합니다. 반응이 일어날 때까지 5분 동안 기다립니다.	분홍색 - 빨간색	투명(무색), 연분홍색 일 수 있음
PGR PHO PGT	노란색은 색조를 불문하고 모두 양성으로 해석해야 합니다. NOV 웰을 음성 대조물질로 사용하십시오.	노란색	투명(무색)
IDX		파란색 - 회색/침전물	투명(무색) 또는 흰색 침전물
VP	40 % KOH 1방울과 5 % 알파 나프톨 1방울을 첨가합니다. 반응이 일어날 때까지 최소 20분 동안 기다립니다.	분홍색 - 빨간색	투명(무색) - 갈색, 탁하거나 연분홍색일 수 있음
BE		진한 갈색 - 검은색	투명(무색) - 밝은 갈색
PYR	펩티다아제 시약 2방울을 추가합니다. 반응이 일어날 때까지 2분 동안 기다립니다.	빨간색/주황색 - 빨간색	노란색 - 주황색/빨간색
ARG		분홍색/주황색 - 분홍색	노란색 - 주황색
URE		분홍색	노란색 - 주황색
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	주황색이 조금이라도 보이면 음성으로 간주해야 합니다.	노란색	주황색 - 빨간색
HEM		베타	알파 또는 감마
LOC	autoSCAN-4 및 WalkAway 시스템 패널 인식에만 해당합니다.		

건조 그람 양성 동정 - 휴율화된 ID QC ¹					
QC 균	ATCC 번호	주요 지시약 기질	예상 결과	사양을 벗어난 결과	불안정 기질
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	-	+	예

1. 정도 관리를 위한 주요 지시약이 CLSI 문서 M50-A에 따른 체계화된 QC를 위해 제공됩니다.¹⁰ 체계화된 QC 프로그램을 실행하기 전에 M50-A 문서를 참조해 세부사항을 확인하고 해당 감독기관 및 검사기관에 문의해 승인 여부를 확인하십시오.

2. 동정 반응 원리

크리스탈 바이올렛(CV): 저농도의 크리스탈 바이올렛이 있는 상태의 증식을 통해 streptococci(양성)를 staphylococci(대체로 음성)와 구분합니다.

미구균 선별(MS): 저농도의 바시트라신(0.05 µg/mL)이 있는 상태의 증식을 통해 staphylococci(양성)를 micrococci(대체로 음성)와 구분합니다.

질산염(NIT): 0.8 % 술파닐산과 0.5 % N, N-디메틸-알파-나프틸아민 첨가 후 빨간색이 형성됨으로써 질산염이 아질산염으로 환원되는 것이 검출됩니다. Streptococci는 질산염에 대해 음성인 반면 대다수 staphylococci는 질산염에 대해 양성입니다.

노보비오신 (NOV): 저농도(1.6 µg/mL)의 노보비오신에 대한 내성은 일부 staphylococci의 특징입니다.

글리코시다아제(PGR, PGT): 균이 특정 글리코시다아제 효소를 생성하는 능력은 노란색의 p-니트로페놀을 배출하는 p-니트로페닐-탄수화물 복합체의 분리에 의해서 검출됩니다.

인독실 포스파타아제(IDX): 효소인 인독실 포스파타아제에 의한 인독실 인산염의 가수분해는 불용성 파란색 화합물을 생성합니다. 대다수 혈장응고효소 및 DNA 분해효소 양성 staphylococci는 IDX 양성입니다.

포게스-프로스카우어(VP): 글루코오스에서 생성되는 아세틸메틸카르비놀은 40 % 수산화칼륨과 5 % 알파 나프톨과 반응하여 빨간색을 형성합니다.

옵토힌(OPT): 옵토힌에 대한 감수성은 *Streptococcus pneumoniae*의 특징입니다. 다른 streptococci와 staphylococci는 옵토힌에 의해 억제되지 않습니다.

포스파타아제(PHO): 알칼리성 포스파타아제는 p-니트로페닐 인산염을 무기 인산염과 노란색의 p-니트로페닐 인산염으로 분리합니다.

담즙 에스쿨린(BE): 40 % 담즙 및 가수분해 에스쿨린에서 증식할 수 있는 균은 가수분해물 에스쿨레틴과 구연산 철의 반응에서 검은색 침전물이 생성되는 것으로 검출됩니다. 그룹 D streptococci, 일부 viridans streptococci, 일부 staphylococci는 BE 양성입니다.

피롤리도닐-β-나프틸아미드(PYR): 피롤리도나아제를 생성하는 균은 L-피롤리도닐-β-나프틸아미드를 L-피롤리돈과 β-나프틸아민(펩티다아제 시약(p-디메틸-아미노시남알데히드)과 결합해 빨간색을 나타냄)으로 분리합니다.

아르기닌(ARG): 아르기닌의 탈수화는 배지의 알칼리화를 유발하며, 이 알칼리화는 페놀 적색 지시약에서 노란색에서 빨간색으로 변화하는 것으로 검출됩니다.

요소(URE): 요소분해효소는 요소를 분리해 암모니아를 형성합니다. 이로 인한 pH 상승은 페놀 적색 지시약에 의해 검출됩니다.

탄수화물(RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): 특정 탄수화물의 발효는 산을 형성시킵니다. 이에 따른 pH 하락은 페놀 적색 지시약이 노란색으로 변화하는 것으로 검출됩니다.

6.5 % NaCl(NACL): 6.5 % 염화나트륨에 대한 내성이 증식을 통해 나타납니다. 내염성을 통해 enterococci를 non-enterococci와 구분합니다.

바시트라신(BAC): 저농도의 바시트라신에 대한 감수성은 증식 부족에 의해 나타나며 *Streptococcus pyogenes*의 특징입니다.

피루브산염(PRV): 피루브산염을 이용하면 산이 형성됩니다. 이에 따른 pH 하락은 페놀 적색 지시약이 노란색으로 변화하는 것으로 검출됩니다.

용혈(HEM): streptococci에 의해서 생성되는 스트렙토리신 S와 O는 양의 혈액이 들어 있는 배지에 있는 적혈구 세포의 완전한 또는 부분적 분해를 유발합니다.

3. 균 동정

MicroScan 건조 그램 양성 Biotype Lookup Program은 미지의 검사균 동정에 사용됩니다. 이 프로그램은 MicroScan 자체의 데이터베이스에서 생성되었습니다. 그램 양성 Lookup Program은 *Streptococcaceae*에 대한 27가지 검사와 *Micrococcaceae*에 대한 18가지 검사의 컴퓨터 분석을 제공합니다. 이들 검사는 각각 9자리 또는 6자리의 바이오타입 번호로 변환됩니다. 결과 기록 방법에 대해서는 프로그램을 참조하십시오. 이 프로그램은 균 동정 및 상대적 확률을 표시합니다. 모든 확률이 최고 누적 총계 99.9 %까지 높은 확률의 순서대로 표시됩니다. 이 프로그램은 *Micrococcaceae*와 *Streptococcaceae*의 2개 섹션으로 구분됩니다.

“Very Rare Biotype”(매우 드문 바이오타입)을 생성하는 바이오타입이 발생할 경우, LabPro 소프트웨어(Utilities(유틸리티)>System(시스템)>Biotype Lookup(바이오타입 조회))를 참조하거나 Beckman Coulter 웹 사이트에서 Biotype Lookup Program(바이오타입 조회 프로그램)을 참조하거나 현지 대리점에 문의하십시오.

사용의 제약조건

1. CLSI 문서 M7-A7은 까다로운 streptococci를 검사할 때 용해된 말의 혈액을 Mueller Hinton 액체 배지에 추가할 것을 권장합니다. MicroScan 건조 그램 양성 패널 절차는 이 권장사항과 다릅니다. 증식 웰에서 증식이 부적합하면 생화학적 결과가 유효하지 않기 때문에 대체 방법을 사용해야 합니다.
2. 혐기성 세균 - 양성 ID 패널은 혐기성 그램 양성 구균을 검사하는 데 적합하지 않습니다.
3. 낮은 확률의(< 85 %) 동정을 얻을 경우 최종 동정 결정을 위해 추가적인 검사가 필요할 수 있습니다(호기성 그램 양성 균용 MicroScan Biotype Lookup Program 또는 Microbiology Manual(미생물학 설명서) 참조).
4. 검사 결과를 판정하려면 훈련된 임상 전문가가 균 동정을 승인하기 전에 필요에 따라 판단, 지식 및 추가 확인 검사를 사용해야 합니다.
5. 바이오타입 숫자를 동일한 환자로부터 채취한 여러 표본으로부터 분리한 균주의 표현형 동정에 사용해서는 안 됩니다.
6. 운동성 및 색소 생성 여부를 확인하여 반코마이신 내성 *E. faecium*을 *E. gallinarum*에서 구분할 수 있습니다. 자세한 내용은 Microbiology Manual(미생물학 설명서)의 추가 검사표를 참조하십시오.

예상 수치

생화학적 기질의 예상값은 Microbiology Manual(미생물학 설명서)에 포함된 Percent Chart(백분율 차트)를 참조하십시오.

정도관리

알려진 반응으로 균을 검사하여 동정 배지의 수용 가능성을 확인해야 합니다. 권장되는 American Type Culture Collection (ATCC) 정도 관리균에 대한 결과는 다음 표에 나와 있습니다.*

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

건조 그람 양성 동정 기질 정도관리표

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	해당 사항 없음	해당 사항 없음
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	해당 사항 없음
NOV ²	-	해당 사항 없음	-	해당 사항 없음
PGR ²	-	-	-	해당 사항 없음
IDX	+	해당 사항 없음	해당 사항 없음	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	해당 사항 없음
PHO	+	해당 사항 없음	-	해당 사항 없음
BE	-	+	+	해당 사항 없음
PYR	해당 사항 없음	+	-	해당 사항 없음
ARG	+	+	-	해당 사항 없음
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	해당 사항 없음
MAN	+	+	+	-
LAC	+	해당 사항 없음	+	-
TRE	해당 사항 없음	+	+	-
MNS	해당 사항 없음	+	+	-
NACL	해당 사항 없음	+	-	해당 사항 없음
SOR	해당 사항 없음	+	-	해당 사항 없음
ARA ²	해당 사항 없음	-	-	해당 사항 없음
RBS	해당 사항 없음	+	-	해당 사항 없음
INU	해당 사항 없음	-	+	해당 사항 없음
RAF	해당 사항 없음	-	+	해당 사항 없음
BAC ²	해당 사항 없음	+	+	해당 사항 없음
PRV	해당 사항 없음	+	-	해당 사항 없음

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. 각 생화학물질에 필요한 추가적인 양성 또는 음성 반응에 대해서는 추가 검사표를 참조하십시오.

3. 24시간 배양이 필요할 수 있습니다.

N/A = 해당 사항 없음

참고: 정도관리군은 모든 동정 기질에 양성/음성 반응을 제공하도록 선택됩니다. 따라서 군 동정이 QC 차트에 명시된 동정과 다를 수 있습니다. 제품 성능의 허용 가능 여부는 동정이 아니라 검사 결과를 비교하여 결정해야 합니다.

추가 검사표

군	기질	예상 결과
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xyloso</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

성능 특성

식별

MicroScan 건조 그람 양성 타입 3 패널의 성능 특징은 다기관 연구에서 건조 그람 양성 타입 2 패널을 사용하여 확립되었습니다. 임상분리주와 보존 균주는 일반 임상 검사실에서 예상되는 유형의 세균 군집을 나타내기 위해서 건조 양성 ID 타입 3 패널에서 기존 튜브 검사법에 따라 검사되었습니다. 데이터베이스에 포함된 균의 전체 목록은 MicroScan System Microbiology Information Manual (Section 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria)(MicroScan 시스템 미생물학 정보 설명서(4장: 건조된 기존 양성 패널: 그람 양성 호기성 세균))를 참조하십시오.

건조 양성 ID 타입 3 패널 *Micrococcaceae* 결과는 분리주의 97.5 %(157/161)에서 종 레벨과 그룹 레벨이 모두 일치하였습니다. 분리주의 5.6 %(9/161)만 저확률 중 동정을 확인하기 위해 추가 검사가 요구되었습니다.

건조 양성 ID 타입 3 패널 *Streptococcaceae* 결과는 91.3 %(230/252)에서 종 레벨이 일치하였으며 92.1 %(232/252)에서 그룹 레벨이 일치하였습니다. 분리주의 14.3 %(36/252)만 저확률 중 동정을 확인하기 위한 추가 검사가 요구되었으며, 4.4 %(11/252)는 저확률 그룹 레벨 동정을 확인하기 위해 추가 검사가 요구되었습니다.

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 사용 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
	체외/진단 의료 기기	체외/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
	이 쪽이 위면	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Gram Pozitif Tanımlama 3 Prosedür Kılavuzu)

REF B1017-221

KULLANIM AMACI

MicroScan Kurutulmuş Gram Pozitif Tanımlama Tip 3 panelleriyle kullanım içindir. MicroScan Kurutulmuş Gram Pozitif Tanımlama Tip 3 panelleri, hızlı üreyen aerobik ve fakültatif gram pozitif koklar, bazı zor üreyen aerobik gram pozitif koklar ve *Listeria monocytogenes*'in tür seviyesinde tanımlanmasını belirlemede kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Zor üreyen streptokoklar ile kullanım için Prosedür Sınırlamaları Bölümüne bakın.

ÖZET VE PRENSİP

Micrococcaceae, *Streptococcaceae* ve *Listeria monocytogenes* tanımlanmasında modifiye geleneksel ve kromojenik testler kullanılmaktadır. Tanımlama 35°C'de 16-44 saatlik inkübasyonun ardından antimikrobiyal ajanların varlığında pH değişikliklerinin, substrat kullanımının ve üremenin tespitine dayanmaktadır.^{1,2,3,4,5,6,7}

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Yalnızca *in vitro* diagnostik kullanım içindir.
2. Tüm prosedürler boyunca, inokülasyon uygulanmış panellerin potansiyel olarak patojenik organizmalar içerdiği konusunda özel bir hassasiyetle mikrobiyolojik tehlikelere yönelik aseptik tekniklere ve belirlenmiş önlemlere uyun.
3. Bu materyal enfeksiyöz ajanlar içerir ve biyolojik tehlike oluşturan atıklara uygun şekilde atılmalıdır.
4. Bu testin sonuçları her zaman hastanın medikal geçmişi, klinik durumu ve diğer bulgularla birlikte yorumlanmalıdır.
5. Üreme ve OPT kuyucuğu %0,005 hemin sıyrır kristalini içerir.

SAKLAMA

Kurutulmuş Gram Pozitif paneller 2-25°C'de saklanmalıdır.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna techdocs.beckmancoulter.com adresinden ulaşılabilir

BOZULMA BELİRTİLERİ

Önerilenlerin dışındaki saklama koşullarına uzun süreli maruziyet tanımlama substratlarının hidrolizine neden olabilir. Son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Daha fazla yardım için Beckman Coulter Temsilcinize veya Dağıtımcinize başvurun.

NUMUNELERİN TOPLANMASI VE HAZIRLANMASI

Uygun numuneler *Manual of Clinical Microbiology*'de (Klinik Mikrobiyoloji Kılavuzu) önerilen prosedürlere göre alınmalı, nakledilmeli ve primer izolasyon ortamlarına yerleştirilmelidir.⁸

SAĞLANAN MALZEMELER

Pozitif Tanımlama Tip 3 (B1017-221)

Prosedür Kılavuzu

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

0,5 McFarland Türbidite Standardı

%0,5'lik N, N-Dimetil-alfa-naftilamin, 30 mL (B1010-45A) ya da 250 mL (B1015-45)

%0,8'lik Sülfanilik Asit, 30 mL (B1010-44A) ya da 250 mL (B1015-44)

Tek kullanımlık steril uçlu 100 µL'lik pipetör

%5'lik Alfa Naftol, 30 mL (B1010-42A)

%40'lık Potasyum Hidroksit, 30 mL (B1010-43A) ya da 250 mL (B1015-43)

Panel Kapakları (B1010-56B)

Genel Laboratuvar Ekipmanı

İnokülatör-D Seti (B1013-4)

İnokülüm Suyu, 3 mL (B1015-2)

PLURONIC®'li İnokülüm Suyu, 25 mL (B1015-7)*

*PLURONIC® sürfaktanları, BASF Corporation, Parsippany, NJ USA'nın tescilli ticari markasıdır

Mikrodilüsyon İzleyici

Mineral Yağ, 60 mL (B1010-40)

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

Prompt® İnokülasyon Sistemi (B1026-10D)**

Kalite Kontrol Organizmaları (Bu kılavuzun KK bölümüne başvurun)

Peptidaz Reaktifi, 30 mL (B1012-30B) veya 250 mL (B1015-30)

Reaktif Damlatma Kiti (B1013-12A)

RENOK Rehidratör/İnokülatör (B1018-14) ya da eşdeğeri

Türbidimetre

Vorteks

Barkod Etiket Kağıdı (B1018-129)

WalkAway Tepsi Kapakları (B1018-18)

PROSEDÜR

Panel Hazırlığı

- Kullanılacak panelleri saklama alanından çıkarın. **Aşağıdaki durumların herhangi birinin söz konusu olması halinde paneller kullanılmamalıdır.**
 - Nem alıcının mevcut olmaması ya da kırılmış olması durumunda.
 - Panel kuyucuklarının renginin bozulmuş olması durumunda (ör. PHO).
 - Ambalaj bütünlüğü bozulmuş (açılmış, delinmiş ya da yırtılmış).
- Poşeti keserek açın ve paneli çıkarın. Buzdolabında saklanmış olması durumunda paneli hemen folyo poşetten çıkarın. Rehidrasyon öncesinde panellerin oda sıcaklığına gelmesini bekleyin. Paneller, üzerlerine temiz bir Panel Kapağı yerleştirilerek istiflenebilir. Açılmış olan tüm paneller aynı gün içinde kullanılmalı ya da atılmalıdır.

Pozitif Tanımlama Tip 3

Tanımlama Substratları	Kıs.	Tanımlama Substratları	Kıs.
Kristal Viyole	CV	Üre	URE
Mikrokok Tarama	MS	Manitol	MAN
Nitrat	NIT	Laktoz	LAC
Novobiosin	NOV	Trehaloz	TRE
PNP-β-D-Glukoronid	PGR	Manoz	MNS
İndoksil Fosfataz	IDX	Sodyum Klorür %6,5	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbitol	SOR
Optokin	OPT	Arabinoz	ARA
Fosfataz	PHO	Riboz	RBS
%40 Safra Eskülin	BE	İnülin	INU
L-Pirolidonil-β-naftilamit	PYR	Rafinoz	RAF
Arginin	ARG	Basitrasin	BAC
PNP-β-D-Galaktopiranozid	PGT	Piruvat	PRV

İnokülüm Hazırlığı

CLSI koloni sayımı yaparak inokülüm yoğunluğunun periyodik olarak kontrol edilmesini önermektedir. Koloni sayımı önerileri için CLSI belgesi M7-A7 10.3.1.3 bölümüne başvurun. *E. coli* ATCC 25922 için beklenen sonuçlar, son test konsantrasyonları için 5×10^5 CFU/mL'ye çok yakın bir değer olmalıdır.⁹ Kullanıcı, özellikle Prompt Sistemi gibi tekniğe dayanan manuel yöntemler kullanıldığında veya inokülüm bir fotometrik cihaz olmadan hazırlandığında, inokülümün hazırlanması konusunda çok dikkatli olmalıdır.

Not: Log ve Sabit faz teknikleri MicroScan ürünlerinde desteklenmez.

1. Türbidite Standardı Tekniği — Primer İnokülüm Yöntemi

Türbidite standardı tekniği, tüm aerobik gram pozitif kokların direkt inokülasyonu için önerilir.

- Steril bir aplikatör çubuğu, öze ya da temizleme çubuğu kullanarak 18-24 saatlik inhibe edici olmayan bir agar petri kabındaki iyi düzeyde izole olmuş, morfolojik olarak benzer 5-10 küçük ya da 4-5 büyük koloninin yüzeyine dokununuz.

**3M, St. Paul, MN USA

- B. 3 mL İnokülüm Suyu (otoklavlanmış deiyonize su) içinde emülsifiye edin. Son türbidite 0,5 McFarland türbidite standardına eşdeğer olmalıdır. $0,08 \pm 0,02$ aralığına sahip bir MicroScan Türbidimetre kullanılarak eşdeğer bir türbiditeye ulaşılabilir. Sıkıca kapatın.
- C. Süspansiyonu 2-3 saniye vorteksle karıştırın.
- D. Standardize süspansiyonun 0,1 mL'sini (100 µL) pipetle 25 mL PLURONIC'li İnokülüm Suyuna aktarın. Sıkıca kapatın. Karıştırmak için 8-10 defa ters çevirin.

2. Prompt Sistemi

Daha hızlı üreyen gram pozitif koklar için Prompt Sistemi kullanılabilir. Prompt Sisteminin doğru kullanımı için Prompt Inoculation Procedural Manual (Prompt İnokülasyon Prosedür Kılavuzu) belgesine bakın.

Not: Dikkatli kullanın. Boyut şartını karşılamayan organizmalarda yetersiz inokülasyon meydana gelebilir. Yetersiz inokülasyon, tanımlama test sonuçlarında hatalara neden olabilir.

Panel Rehidrasyonu/İnokülasyonu

Rehidrasyon ve inokülasyon, Inoculators-D (B1013-4) ile RENOK sistemi kullanılarak gerçekleştirilir. Kullanım için RENOK Operator's Manual for use (RENOK Kullanım Kılavuzu) belgesine başvurun. Alternatif bir sistem kullanıldığı takdirde, 115 +10 µL İnokülüm Suyu (PLURONIC) ile rehidrasyon uygulayın. $3-7 \times 10^5$ CFU/mL'lik bir son kuyucuk konsantrasyonu elde edilmesi gerekir.

Test edilen organizmanın canlılığını ve saflığını garanti altına almak için inokülümün uygun bir agar petri kabına uygulanıp uygun koşullar altında inkübe edilmesiyle bir saflık petri kabı hazırlanmalıdır. Saflık petri kabında iki ya da daha fazla koloni tipi mevcut olduğu takdirde kolonileri yeniden izole edin ve testi yeniden uygulayın.

Biyokimyasal Kaplamalar

1. Bir damlatma şişesi kullanarak ARG ve URE kuyucuklarını en az 3 damla mineral yağı ile kaplayın. (Bu kuyucukların panelde altı çizilidir.)
2. Kuyucuklardaki ortamlar mineral yağ ile tamamen kaplanmalıdır ancak yağ kuyucuklardan taşmamalıdır.

Not: WalkAway SI ve WalkAway plus cihazları (ve otomatik yağ kaplama özelliği ile yükseltilmiş WalkAway cihazları) uygun kuyucuklara otomatik olarak yağ ilave eder.

Inkübasyon

1. Paneller, bir WalkAway Sisteminde inkübe edilebilir veya aşağıdaki adımlar uygulanarak bağlantısız şekilde inkübe edilebilir:
 - A. Inkübasyon sırasında eşit ısı dağılımı sağlamak için panelleri 3-5'li gruplar halinde istifleyin.
 - B. Buharlaşmayı önlemek için her panel grubunun üzerine temiz bir Panel Kapağı yerleştirin. Panel Kapakları yeniden kullanılabilir. Panel Kapaklarını alkolle dekontamine etmeyin. Panel kapakları sabun ve su ile temizlenebilir. İyice durulayın ve kurumaya bırakın.
 - C. Panelleri 16-20 saat boyunca 35°C'de, bir CO₂'siz inkübatörde inkübe edin.

Panellerin Okunması

Paneller, MicroScan Mikrodilüsyon İzleyici kullanılarak manuel okunabilir ve sonuçlar bir Manual Panel Worksheet'e (Manuel Panel Çalışma Sayfası) (bu prosedür kılavuzunun Gerekli fakat Sağlanmayan Materyaller bölümüne bakın) veya MicroScan cihazına (touchSCAN-SR, autoSCAN-4 ve WalkAway sistemleri) kaydedilebilir. MicroScan cihazı ile panellerin okunması için uygun kullanım kılavuzuna başvurun.

1. 16-20 saatlik inkübasyonun ardından panelleri inkübatörden çıkarın.
2. Mevcut olabilecek herhangi bir yoğunlaşmayı ya da kalıntıyı temizlemek için panelin alt kısmını havsız bir mendille silin.
3. Panelleri yalnızca kontrol kuyucuğu berrak ve üreme kontrol kuyucuğu bulanık olduğu takdirde okuyun. Türbidite, kuyucuğun tamamını kaplayan beyaz bir puslanma, kuyucuğun ortasında beyaz bir düğme ya da kuyucuğun her yerinde görülen ince granüler bir üreme şeklinde olabilir. Yetersiz üreme, kuyucukta hafif bir beyazlık olması ya da sıvı besiyerinin berrak olması şeklinde tanımlanır.
4. Sonuçlar manuel olarak okunmuşsa, sonuçları uygun çalışma sayfasına kaydedin.
5. Tanımlama Substratlarının Okunması
 - A. Siyah (indirekt olarak aydınlatılan) bir arka plan önünde okunması gereken CV, MS, NOV, OPT, NACL ve BAC dışındaki tüm tanımlama substratlarını beyaz bir arka plan ile okuyun.
 - B. IDX ve PHO sonuçları 16-20 saatlik inkübasyonun ardından kaydedilir.
 - C. Negatif PGT ve 3'ten daha az pozitif karbonhidratta sahip paneller, nihai okuma ve tanımlama öncesinde ek bir 24 saat boyunca yeniden inkübe edilmelidir.
 - D. Sadece 3 karbonhidrata veya pozitif PGT reaksiyonuna sahip panellere 16-20 saat sonra reaktif eklenmelidir. 40-44 saat sonra, pozitif testlerin sayısına bakmaksızın reaktif ekleyin.

- E. Reaktif ekleme işleminden önce, tüm pozitif reaksiyonları kaydedin.
- F. Reaktifleri aşağıdaki şekilde ekleyin:
- VP kuyucuğuna 1 damla %40'lık Potasyum Hidroksit (KOH) ve 1 damla %5'lik Alfa Naftol ilave edin. Okuma öncesinde VP reaksiyonun gelişmesi için en az 20 dakika bekleyin.
 - NIT kuyucuğuna 1'er damla %0,8'lik Sülfanilik Asit ve %0,5'lik N, N-Dimetil-alfa-naftilamin ilave edin. Okumadan önce, NIT reaksiyonunun gelişmesi için en az 5 dakika bekleyin.
 - PYR kuyucuğuna 2 damla Peptidaz reaktifi ilave edin. Okumadan önce 2 dakika bekleyin.
- G. Biyokimyasal yorum konusunda yardım için SONUÇLAR bölümüne bakın.

SONUÇLAR

1. Biyokimyasal yorumlar

Kuyucuk	Reaktif	Pozitif	Negatif
CV MS NOV OPT NACL BAC		Üreme	Üreme Yok
NIT	1 damla %0,8'lik Sülfanik Asit ve 1 damla %0,5'lik N, N-Dimetil-alfa-naftilamin ilave edin. Reaksiyonun gelişmesi için 5 dakika bekleyin.	Pembe ile Kırmızı	Berrak (renksiz) Çok soluk pembe olabilir
PGR PHO PGT	Herhangi bir sarı tonu pozitif olarak yorumlanmalıdır. NOV kuyucuğunu negatif kontrol olarak kullanın.	Sarı	Berrak (renksiz)
IDX		Mavi ile Gri/Çökme	Berrak (renksiz) veya beyaz çökelti
VP	1 damla %40'lık KOH ve 1 damla %5'lik Alfa Naftol ilave edin. Reaksiyonun gelişmesi için en az 20 dakika bekleyin.	Pembe ile Kırmızı	Berrak (renksiz) ile Kahverengi, bulutsu veya çok soluk pembe olabilir
BE		Koyu Kahverengi ile Siyah	Berrak (renksiz) ile Açık Kahverengi
PYR	2 damla Peptidaz reaktifi ilave edin. Reaksiyonun gelişmesi için 2 dakika bekleyin.	Kırmızı/Turuncu ile Kırmızı	Sarı ile Turuncu/Kırmızı
ARG		Pembe/Turuncu ile Pembe	Sarı ile Turuncu
URE		Pembe	Sarı ile Turuncu
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Her türlü turuncu belirti negatif olarak kabul edilmelidir.	Sarı	Turuncu ile Kırmızı
HEM		Beta	Alfa veya Gama
LOC	Yalnızca autoSCAN-4 ve WalkAway Sistemleri panel tanımlaması içindir.		

Kurutulmuş Gram Pozitif Tanımlama — Basitleştirilmiş Tanımlama KK ¹					
KK Organizması	ATCC Numarası	Anahtar İndikatör Substratı	Beklenen Sonuç	Spesifikasyon Dışı Sonuç	Labil Substrat
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Evet

1. Kalite Kontrole ilişkin temel indikatörler M50-A sayılı CLSI dokümanına göre basitleştirilmiş KK için sunulmaktadır.¹⁰ Basitleştirilmiş KK programını uygulamadan önce, ayrıntılar için M50-A dokümanına başvurun ve kabul edildiğini onaylamak için ilgili düzenleyici kurumlar ve inceleme grupları ile görüşün.

2. Tanımlama Reaksiyonlarının Prensipleri

Kristal Viyole (CV): Düşük konsantrasyonlu kristal viyole varlığında üreme streptokokları (pozitif) stafilokoklardan (çoğunlukla negatif) ayırt etmek için kullanılır.

Micrococcus Taraması (MS): Düşük basitrasın konsantrasyonlarında (0,05 µg/mL) üreme stafilokokları (pozitif) mikroboklardan (negatif) ayırmak için kullanılır.

Nitrat (NIT): Nitratın nitrite indirgenmesi %0,8 Sülfanilik Asit ve %0,5 N, N-Dimetil-alfa-naftilamin ilavesi sonrasında kırmızı rengin oluşmasıyla tespit edilir. Streptokoklar nitrat negatif iken çoğu stafilokok nitrat pozitifdir.

Novobiyosin (NOV): Düşük Novobiyosin konsantrasyonlarına (1,6 µg/mL) direnç, bazı stafilokokların özelliğidir.

Glikosidazlar (PGR, PGT): Bir organizmanın belirli bir glikosidaz enzimini üretebilme yeteneği, sarı renkli p-nitrofenol salınımına yol açan p-nitrofenil-karbonhidrat kompleksinin parçalanmasıyla tespit edilir.

İndoksil Fosfataz (IDX): İndoksil fosfatın indoksil fosfataz enzimi ile hidrolizi sonucunda çözünmeyen mavi bir bileşik oluşur. Çoğu koagülaz ve DNase pozitif stafilokoklar IDX pozitifdir.

Voges-Proskauer (VP): Glikozdan kaynaklanan asetilmetilkarbinol %40 Potasyum Hidroksit ve %5 Alfa Naftol ile reaksiyona girerek kırmızı renk oluşturur.

Optokin (OPT): Optokine duyarlılık *Streptococcus pneumoniae*'nin özelliğidir. Diğer streptokoklar ve stafilokoklar optokin tarafından inhibe edilmez.

Fosfataz (PHO): Alkalın fosfataz, p-nitrofenil fosfatı inorganik fosfat ve sarı renkli p-nitrofenole ayrıştırır.

Safra Eskülin (BE): %40 safra içinde üreyebilen ve eskülini hidrolize edebilen organizmalar, hidrolitik ürün eskületin demir sitrat ile reaksiyonundan kaynaklanan siyah bir çökelti oluşumu ile tespit edilir. D grubu streptokoklar, bazı viridans streptokoklar ve bazı stafilokoklar BE pozitifdir.

Pirolidonil-β-naftilamid (PYR): Pirolidonaz üreten organizmalar L-pirolidonil-b-naftilamidi L-pirolidon ve Peptidaz reaktifiyle (p-dimetil-aminosinamaldehit) birleşen β-naftilamine ayrıştırarak kırmızı renk oluşturur.

Arjinin (ARG): Arjininin dehidrolizasyonu ortamın alkalileşmesine yol açar; bu durum fenol kırmızısı indikatöründe sarıdan kırmızıya renk değişimi ile tespit edilir.

Üre (URE): Üreaz enzimi üreyi parçalar ve amonyak oluşturur. Bunun sonucu olarak pH'ta meydana gelen artış fenol kırmızısı indikatörü ile tespit edilir.

Karbonhidratlar (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): Belirli bir karbonhidratın fermentasyonu asit oluşumuyla sonuçlanır. Sonuç olarak pH'ta meydana gelen düşüş fenol kırmızısı indikatörünün sarıya dönüşü ile tespit edilir.

%6,5 NaCl (NACL): %6,5 sodyum klorür toleransı üreme ile gösterilir. Tuz toleransı enterokokları enterokok olmayanlardan ayırt etmek için kullanılır.

Basitrasin (BAC): Düşük basitrasin konsantrasyonlarına duyarlılık üreme olmaması ile gösterilir ve *Streptococcus pyogenes*'in bir özelliğidir.

Piruvat (PRV): Piruvat kullanımı asit oluşumuna neden olur. Sonuçta meydana gelen pH düşüşü fenol kırmızısı indikatörünün sarıya dönüşü ile tespit edilir.

Hemoliz (HEM): Streptokoklar tarafından üretilen streptolisin S ve O koyun kanı içeren agar içindeki kırmızı kan hücrelerinin tam veya kısmi lizisine sebep olur.

3. Organizma Tanımlaması

MicroScan Kurutulmuş Gram Pozitif Biotype Lookup Program, bilinmeyen test organizmalarının tanımlanması için kullanılır. Bu program MicroScan'ın kendi veritabanı kullanılarak oluşturulmuştur. Gram Pozitif Biotype Lookup Program, *Streptococcaceae* için 27 test ve *Micrococcaceae* için 18 testin bilgisayar analizini sağlar. Bu testler sırasıyla 9 veya 6 haneli bir biyotip numarasına çevrilmiştir. Sonuçların kaydedilme yöntemi için programa başvurun. Bu programda organizma tanımlamaları ve rölatif olasılıklar listelenmektedir. Tüm olasılıklar %99,9'luk bir kümülatif toplama kadar en yüksek olasılık sırasıyla sıralanmıştır. Program 2 bölüme ayrılmıştır: *Micrococcaceae* ve *Streptococcaceae*.

"Very Rare Biotype" (Çok Nadir Biotip) ile sonuçlanan bir biyotiple karşılaşırsanız, LabPro yazılımına (Utilities (Yardımcı Programlar) > System (Sistem) > Biotype Lookup (Biyotip Arama)) veya Beckman Coulter web sitesinde bulunan Biotype Lookup Servisine ya da yerel dağıtıcınıza danışın.

METODUN SINIRLILIKLARI

1. M7-A7 sayılı CLSI Belgesi, zor üreyen streptokokları test ederken Lizisli At Kanı içeren Mueller Hinton Sıvı Besiyeri takviyesini tavsiye eder. MicroScan Kurutulmuş Gram Pozitif Panel Prosedürü, bu tavsiyeden farklıdır. Üreme kuyucuğunda yetersiz üreme varsa, biyokimyasal sonuçlar geçerli değildir ve alternatif bir yöntem kullanılmalıdır.
2. Anaerobik Bakteri — Pozitif Tanımlama paneli anaerobik gram pozitif kokların test edilmesi için uygun değildir.
3. Düşük olasılıklı bir tanımlama elde edildiğinde (<%85) son tanımlamayı belirlemek için ek testlerin yapılması gerekebilir (Aerobik Gram Pozitif Organizmalar için MicroScan Biotype Lookup Program veya Microbiology Manual'a (Mikrobiyoloji Kılavuzu) başvurun).
4. 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.
5. Biyotip numaraları aynı hastadan alınan farklı numunelerde izole edilmiş suşlara ilişkin fenotip tanımlaması için kullanılmamalıdır.
6. Vankomisine dirençli *E. faecium*, *E. gallinarum*'dan motilite ve pigment üretimi kontrol edilerek ayırt edilebilir. Daha fazla bilgi için Microbiology Manual'ın (Mikrobiyoloji Kılavuzu) ek test tablosuna bakın.

BEKLENEN DEĞERLER

Biyokimyasal substratlarla beklenen değerler için, lütfen Microbiologics Manual (Mikrobiyoloji Kılavuzu) içinde bulunan Percent Chart'a (Yüzde Tablosu) bakın.

KALİTE KONTROL

Tanımlama ortamının kabul edilebilirliği bilinen reaksiyonları olan organizmaların test edilmesi yoluyla kontrol edilmelidir. Önerilen American Type Culture Collection (ATCC) (Amerika Tipi Kültür Toplama) kontrol organizmalarına ait sonuçlar aşağıdaki tabloda listelenmektedir.*

Kurutulmuş Gram Pozitif Tanımlama Substratı Kalite Kontrol Tablosu

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	Yok	Yok
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	Yok
NOV ²	-	Yok	-	Yok
PGR ²	-	-	-	Yok
IDX	+	Yok	Yok	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	Yok
PHO	+	Yok	-	Yok
BE	-	+	+	Yok
PYR	Yok	+	-	Yok
ARG	+	+	-	Yok
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	Yok
MAN	+	+	+	-
LAC	+	Yok	+	-
TRE	Yok	+	+	-
MNS	Yok	+	+	-
NACL	Yok	+	-	Yok
SOR	Yok	+	-	Yok
ARA ²	Yok	-	-	Yok
RBS	Yok	+	-	Yok
INU	Yok	-	+	Yok
RAF	Yok	-	+	Yok
BAC ²	Yok	+	+	Yok
PRV	Yok	+	-	Yok

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Her bir biyokimyasal için gerektiği şekilde, ilave pozitif ya da negatif reaksiyonlar için Ek Test Tablosuna başvurun.

3. 24 saatlik inkübasyon gerektirebilir.

N/A = Uygulanamaz

NOT: Kalite Kontrol organizmaları tüm tanımlama substratları için pozitif/negatif reaksiyonlar sağlamak üzere seçilir. Bunun bir sonucu olarak, organizma tanımlamaları KK tablosunda belirtilenden farklı olabilir. Ürün performansının kabul edilebilirliği tanımlama ile değil test sonuçlarının karşılaştırılması ile belirlenmelidir.

Ek Test Tablosu

Organizma	Substrat	Beklenen Sonuç
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Tanımlama

MicroScan Kurutulmuş Gram Pozitif Tip 3 paneline ait performans değerleri, çok merkezli bir çalışmada, Kurutulmuş Gram Pozitif Tip 2 Paneli kullanılarak kanıtlanmıştır. Klinik izolatlar ve stok suşlar, rutin klinik laboratuvarlarda beklenen bakteriyel popülasyon tipini göstermek üzere Kurutulmuş Pozitif Tanımlama Tip 3 paneli ve geleneksel tüp metodolojileri ile test edilmiştir. Veritabanında yer alan organizmaların tam listesi için MicroScan System Microbiologics Information Manual'a (MicroScan

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

Sistem Mikrobiyoloji Bilgi Kılavuzu) (Bölüm 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria (Kurutulmuş Geleneksel Pozitif Paneller: Gram Pozitif Aerobik Bakteriler)) başvurun.

Kurutulmuş Pozitif Tanımlama Tıp 3 paneli *Micrococcaceae* sonuçları hem tür hem de grup düzeyinde izolatların %97,5'iyle (157/161) uyum içindedir. Düşük olasılıklı türler veya grup düzeyinde tanımlamayı onaylamak amacıyla izolatların sadece %5,6'sı (9/161) ek test gerektirmiştir.

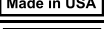
Kurutulmuş Pozitif Tanımlama Tıp 3 paneli *Streptococcaceae* sonuçları tür düzeyinde %91,3 (230/252) oranında ve grup düzeyinde %92,1 (232/252) oranında uyum içindedir. Düşük olasılıklı tür tanımlamayı onaylamak için izolatların sadece %14,3'ü (36/252) ve düşük olasılıklı grup düzeyini onaylamak amacıyla da %4,4'ü (11/252) ek test gerektirmiştir.

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
②	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
LOT	Seri Kodu	Parti veya lot tanımlanabilecek şekilde üreticinin parti numarasını belirtir.	ISO 15223-1; 5.1.5
REF	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
EC REP	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
IVD	In Vitro Diyagnostik Medikal Cihaz	In vitro diyagnostik medikal cihaz olarak kullanılmak üzere tasarlanmış medikal cihazı belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.5.1
	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	CE İşareti	Avrupa Uyumu Düzenleyici İşareti	uygulanamaz
CONTENTS	İçindekiler	uygulanamaz	uygulanamaz
CONTENTS/AST	İçerik (paket)	Antimikrobiyal Ajan (kısaltma)	uygulanamaz

Sembol Anahtarı			
Sembol	Sembol Başlığı	Standardın Açıklaması	Standart
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Практическое руководство для идентификации грамположительных микроорганизмов 3)

REF B1017-221

НАЗНАЧЕНИЕ

Для использования с панелями MicroScan с сухими средами для идентификации грамположительных микроорганизмов типа 3. Панели MicroScan с сухими средами для идентификации грамположительных микроорганизмов типа 3 предназначены для идентификации на уровне видов быстрорастущих аэробных и факультативных грамположительных кокков, некоторых прихотливых аэробных грамположительных кокков, а также *Listeria monocytogenes*. Информация по использованию панелей для тестирования прихотливых стрептококков приводится в разделе «Ограничения метода».

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПРИНЦИПЫ РАБОТЫ

Для идентификации бактерий семейств *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*, а также *Listeria monocytogenes* используются модифицированные стандартные и хромогенные тесты. Идентификация основана на определении изменений pH, потребления субстрата и роста микроорганизмов в присутствии антибактериальных препаратов после 16–44 часов инкубации при температуре 35°C.^{1,2,3,4,5,6,7}

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для *in vitro* диагностики.
2. При работе с представляющим опасность микробиологическим материалом соблюдайте правила асептики и установленные меры предосторожности при выполнении всех процедур, обращая особое внимание на наличие в инокулированных планшетах потенциально патогенных микроорганизмов.
3. Данный материал содержит возбудителей инфекционных заболеваний и должен утилизироваться соответствующим для биологически опасных отходов образом.
4. Результаты этого теста необходимо всегда интерпретировать в сочетании с анамнезом заболевания пациента, клинической картиной и другими полученными результатами.
5. Лунка роста и лунка ОРТ содержат 0,005% кристаллического бычьего гемина.

ХРАНЕНИЕ

Панели с сухими средами для грамположительных микроорганизмов следует хранить при температуре 2–25°C.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество



Паспорт безопасности доступен на сайте
techdocs.beckmancoulter.com

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Длительное хранение в условиях, не соответствующих рекомендованным, может привести к гидролизу субстратов для идентификации. Не использовать по истечении срока годности. Для получения дальнейшей поддержки обращайтесь к представителю или дистрибьютору компании Beckman Coulter.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Подлежащие исследованию 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).⁸

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Панель для идентификации грамположительных микроорганизмов типа 3 (B1017-221)

Практическое руководство

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Стандарт мутности 0,5 по МакФарланду

0,5% раствор N, N-диметил-альфа-нафтиламина, 30 мл (B1010-45A) или 250 мл (B1015-45)

0,8% раствор сульфаниловой кислоты, 30 мл (B1010-44A) или 250 мл (B1015-44)

Пипеточный дозатор для объема 100 мкл с одноразовыми стерильными наконечниками

5% раствор альфа-нафтола, 30 мл (B1010-42A)

40% раствор гидроксида калия, 30 мл (B1010-43A) или 250 мл (B1015-43).

Лотки-крышки (B1010-56B)

Лабораторное оборудование общего назначения

Комплект инокулятора-D (B1013-4)

Вода для инокуляции, 3 мл (B1015-2)

Вода для инокуляции с PLURONIC®, 25 мл (B1015-7)*

Анализатор планшетов для микроразведения

Минеральное масло, 60 мл (B1010-40)

Минеральное масло, 250 мл (B1010-40A) — ТОЛЬКО для использования с приборами WalkAway SI и WalkAway plus, а также приборами WalkAway с дополнительной функцией автоматического наложения масла

Система для инокуляции Prompt® (B1026-10D)**

Контрольные микроорганизмы (см. раздел «Контроль качества» данного руководства)

Пептидазный реагент, 30 мл (B1012-30B) или 250 мл (B1015-30)

Комплект для раскапывания реагентов (B1013-12A).

Регидратор/инокулятор RENOK (B1018-14) или эквивалентный прибор

Турбидиметр

Вихревой смеситель

Бумага для печати этикеток со штрихкодом (B1018-129).

Крышки лотка WalkAway (B1018-18)

ПРОЦЕДУРА

Подготовка планшетов

1. Достаньте необходимые панели из места хранения. **Планшеты нельзя использовать во всех нижеперечисленных случаях.**
 - A. Отсутствие или повреждение влагопоглотителя.
 - B. Изменение цвета лунок в панелях (например, РНО).
 - C. Нарушение целостности упаковки (упаковка вскрыта, проколота или разорвана).
2. Разрежьте пакет и извлеките панель. Если панель хранилась в холодильнике, немедленно извлеките планшет из индивидуального фольгового пакета. Перед заполнением планшеты необходимо выдержать до достижения комнатной температуры. Планшеты можно складывать в стопку, накрыв сверху чистым лотком-крышкой. Все извлеченные из упаковки планшеты следует использовать в тот же день или утилизировать.

Идентификация грамположительных микроорганизмов, 3 тип

Субстраты для идентификации	Сокр.	Субстраты для идентификации	Сокр.
Кристаллический фиолетовый	CV	Мочевина	URE
Скрининговый тест на микрококки	MS	Маннитол	MAN
Нитрат	NIT	Лактоза	LAC
Новобиоцин	NOV	Трегалоза	TRE
PNP-β-D-глюкуронид	PGR	Манноза	MNS
Индоксилфосфатаза	IDX	Хлорид натрия, 6,5% раствор	NACL
Фогеса-Проскауэра	VP	Сорбитол	SOR
Оптохин	OPT	Арабиноза	ARA
Фосфатаза	PHO	Рибоза	RBS
Эскулин желчи, 40%	BE	Инулин	INU
L-пирролидонил-β-нафтиламид	PYR	Рафиноза	RAF
Аргинин	ARG	Бацитрацин	BAC
PNP-β-D-галактопиранозид	PGT	Пируват	PRV

Приготовление инокулята

Институт клинических и лабораторных стандартов (CLSI) рекомендует периодически проверять плотность инокулята путем подсчета количества колоний. Рекомендации по подсчету колоний приводятся в разделе 10.3.1.3 документа M7-A7 CLSI. Ожидаемый результат для штамма *E. coli* ATCC 25922 должен быть близок к примерному значению в 5×10^5 КОЕ/мл для окончательных тестовых концентраций.⁹ Пользователь должен уделять особое внимание

*Поверхностно-активные вещества PLURONIC®, зарегистрированный товарный знак компании BASF Corporation, Parsippany, NJ, США

**Компания 3M, St. Paul, MN, США

приготовлению инокулята, особенно при использовании способов приготовления вручную, зависящих от методики выполнения, например, при работе с системой Prompt или при работе без фотометрического устройства.

Примечание. Логарифмические методики и методики стационарной фазы не поддерживаются продуктами MicroScan.

1. Стандартный турбидиметрический метод — метод первичной инокуляции

Стандартный турбидиметрический метод рекомендуется для непосредственной инокуляции всех аэробных грамположительных кокков.

- A. С помощью стерильного аппликатора, петли или тампона коснитесь поверхности 4–5 больших или 5–10 небольших схожих по форме хорошо обособленных колоний из чашки с агаром с неингибированной культурой, культивируемой в течение 18–24 часов.
- B. Суспендируйте в 3 мл воды для инокуляции (автоклавируемая деионизованная вода). Окончательная мутность должна соответствовать мутности стандарта 0,5 по МакФарланду. Эквивалентной мутности можно добиться при использовании турбидиметра MicroScan с диапазоном $0,08 \pm 0,02$. Герметично закрывайте крышку.
- C. Интенсивно перемешайте суспензию в течение 2–3 секунд.
- D. Внесите с помощью пипеточного дозатора 0,1 мл (100 мкл) стандартизированной суспензии в 25 мл воды для инокуляции, содержащей PLURONIC. Плотно закройте крышкой. Переверните 8–10 раз для перемешивания.

2. Система Prompt

Система Prompt может использоваться для более быстрорастущих грамположительных кокков. Информация о надлежащем использовании системы Prompt приводится в документе Prompt Inoculation Procedural Manual (Практическое руководство по инокуляции с помощью системы Prompt).

Примечание. Использовать с осторожностью. В случае использования слишком мелких колоний микроорганизмов инокуляция может оказаться недостаточной. Недостаточная инокуляция может привести к неверной идентификации.

Регидратация/инокуляция панели

Регидратация и инокуляция выполняются с помощью системы RENOK с инокуляторами Inoculators-D (B1013-4). Рабочие инструкции приводятся в документе RENOK Operator's Manual (Руководство по эксплуатации системы RENOK). При использовании другой системы регидратация осуществляется с помощью 115 + 10 мкл воды для инокуляции (PLURONIC). Окончательная концентрация в лунке должна составлять $3-7 \times 10^5$ КОЕ/мл.

Для обеспечения жизнеспособности и чистоты исследуемых микроорганизмов чистую культуру следует приготовить методом посева штрихом инокулята в чашке с подходящим агаром и инкубации в соответствующих условиях. При наличии двух или более типов колоний в чистой культуре их следует высеять повторно и провести новое исследование.

Наслоение масла для проведения биохимической реакции

1. С помощью флакона-капельницы нанесите на поверхность лунок ARG и URE по 3 капли минерального масла. (Эти лунки на панели подчеркнуты.)
2. Питательная среда в лунках должна быть полностью покрыта минеральным маслом, однако масло не должно вытекать из лунок.

Примечание. Приборы WalkAway SI и WalkAway plus (и приборы WalkAway с дополнительной функцией автоматического наслоения масла) автоматически добавляют масло в соответствующие лунки.

Инкубация

1. Планшеты можно инкубировать в системе WalkAway или вне ее, соблюдая следующие этапы:

- A. Сложите планшеты в стопки по 3–5 штук для равномерного распределения тепла.
- B. Поместите поверх каждой группы панелей чистый лоток-крышку для предотвращения испарения. Лотки-крышки можно использовать повторно. Лотки-крышки нельзя очищать спиртом. Их можно очищать водой с мылом. Лотки-крышки следует хорошо промыть и дать им высохнуть на воздухе.
- C. Инкубация панелей в течение 16–20 часов при температуре 35°C в инкубаторе без CO₂.

Считывание данных с панелей

Панели могут считываться вручную с помощью анализатора панелей для микроразведения MicroScan (Microdilution Viewer) с протоколированием результатов в Manual Panel Worksheet (Бланк регистрации) (см. раздел «Материалы, не входящие в поставку» данного Практического руководства), или же считывание производится с использованием анализатора MicroScan (системы touchSCAN-SR, autoSCAN-4 и WalkAway). Инструкции по считыванию панелей с помощью прибора MicroScan содержатся в соответствующем руководстве пользователя.

1. Извлеките планшеты из инкубатора через 16–20 часов инкубации.
2. Протрите нижнюю поверхность планшета безворсовой тканью для удаления возможного конденсата или инородных веществ.

3. Панели считываются только в том случае, если контрольная лунка прозрачная, а контрольная лунка с ростом — мутная. Помутнение может принимать вид белого вуалеобразного помутнения всей лунки, белой бляшки в центре лунки или роста мелких гранул по всей лунке. На недостаточный рост указывают легкое побеление лунки или прозрачность бульона.
4. Если результаты считываются вручную, зарегистрируйте данные в соответствующем бланке регистрации.
5. Считывание данных для идентификации субстратов
 - A. Считывание данных для идентификации всех субстратов осуществляется на белом фоне, за исключением лунок CV, MS, NOV, OPT, NACL и BAC, считывание которых следует осуществлять на черном фоне (в отраженном свете).
 - B. Результаты для IDX и PNO регистрируют после инкубации в течение 16–20 часов.
 - C. Панели с отрицательной реакцией в лунке PGT и при наличии менее 3 положительных реакций в лунках с углеводами необходимо инкубировать повторно в течение еще 24 часов до проведения заключительного считывания и идентификации.
 - D. После 16–20 часов инкубации добавляют реагенты только в те панели, в которых отмечена положительная реакция в лунке PGT или же 3 положительных реакции в лунках с углеводами. Через 40–44 часа реагенты добавляют вне зависимости от количества положительных реакций.
 - E. Перед добавлением реагентов регистрируют все положительные реакции.
 - F. Добавьте реагенты следующим образом:
 - a. В лунку VP добавьте 1 каплю 40% раствора гидроксида калия (KOH) и 1 каплю 5% раствора альфа-нафтола. Подождите не менее 20 минут для развития реакции с VP, после чего зарегистрируйте результат.
 - b. В лунку NIT добавьте по 1 капле 0,8% раствора сульфаниловой кислоты и 0,5% раствора N,N-диметил-альфа-нафтиламина. Подождите не менее 5 минут для развития реакции в лунке NIT, после чего зарегистрируйте результат.
 - c. В лунку PYR добавьте 2 капли пептидазного реагента. Подождите 2 минуты, после чего зарегистрируйте результат.
 - G. Информация по интерпретации результатов биохимических реакций приводится в разделе «РЕЗУЛЬТАТЫ».

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Интерпретация результатов биохимических реакций

Лунка	Реагент	Положительный	Отрицательный
CV MS NOV OPT NACL BAC		Рост	Отсутствие роста
NIT	Добавьте 1 каплю 0,8% раствора сульфаниловой кислоты и затем 1 каплю 0,5% раствора N,N-диметил-альфа-нафтиламина. Подождите 5 минут до развития реакции.	От розового до красного	Прозрачный (бесцветный) раствор, возможна слабая бледно-розовая окраска
PGR PNO PGT	Любой оттенок желтого цвета следует интерпретировать как положительную реакцию. В качестве отрицательного контроля используют лунку NOV.	Желтый	Прозрачный (бесцветный) раствор
IDX		Осадок от синего до серого цвета	Прозрачный (бесцветный) раствор или белый осадок
VP	Добавьте 1 каплю 40% раствора KOH и 1 каплю 5% раствора альфа-нафтола. Подождите не менее 20 минут до развития реакции.	От розового до красного	От прозрачного (бесцветного) до коричневого, возможна мутность или очень слабая бледно-розовая окраска
BE		От темно-коричневого до черного	От прозрачного (бесцветного) до светло-коричневого
PYR	Добавьте 2 капли пептидазного реагента. Подождите 2 минуты до развития реакции.	Красный / от оранжевого до красного	От желтого до оранжевого/красного

Лунка	Реагент	Положительный	Отрицательный
ARG		Розовый / от оранжевого до розового	От желтого до оранжевого
URE		Розовый	От желтого до оранжевого
RAF			
LAC			
TRE			
MNS			
SOR	Любой оттенок оранжевого цвета следует интерпретировать как отрицательный результат.	Желтый	От оранжевого до красного
ARA			
RBS			
INU			
MAN			
PRV			
HEM		Бета	Альфа или гамма
LOC	Только в случае считывания панелей с использованием систем autoSCAN-4 и WalkAway.		

Идентификация грамположительных микроорганизмов с помощью панелей с сухими средами — усовершенствованный метод идентификации с контролем качества ¹					
Микроорганизм контроля качества	Номер ATCC	Основной субстрат-индикатор	Ожидаемый результат	Недопустимый результат (не соответствует спецификации)	Неустойчивый субстрат
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	—	+	Да

1. Основные индикаторы для контроля качества предоставлены для усовершенствованного метода контроля качества в соответствии с документом M50-A CLSI.¹⁰ До начала применения усовершенствованной программы контроля качества для получения подробной информации следует обращаться к документу M50-A и сверяться с применимыми требованиями надзорных органов и инспектирующих организаций для подтверждения приемлемости.

2. Принципы реакций идентификации

Кристаллический фиолетовый (CV): рост в присутствии низких концентраций кристаллического фиолетового позволяет отличить стрептококки (наличие роста) от стафилококков (преимущественно отсутствие роста).

Скрининговый тест на микрококки (MS): рост в присутствии низких концентраций бацитрацина (0,05 мкг/мл) позволяет отличать стафилококки (наличие роста) от микрококков (отсутствие роста).

Нитрат (NIT): восстановление нитрата до нитрита определяется по возникновению красного окрашивания после добавления 0,8% раствора сульфаниловой кислоты, а затем 0,5% раствора N,N-диметил-альфа-нафтиламина. Стрептококки не восстанавливают нитрат, тогда как большинство стафилококков восстанавливают.

Новобиоцин (NOV): резистентность к низким концентрациям (1,6 мкг/мл) новобиоцина характерна для некоторых стафилококков.

Гликозидазы (PGR, PGT): способность микроорганизма вырабатывать специфическую гликозидазу обнаруживается ферментным расщеплением п-нитрофенол-углеводного комплекса, что приводит к образованию п-нитрофенола, имеющего желтый цвет.

Индоксилфосфатаза (IDX): ферментный гидролиз индоксилфосфата индоксилфосфатазой приводит к образованию нерастворимого соединения синего цвета. Большинство коагулазо- и деоксирибонуклеазоположительных стафилококков вырабатывают индоксилфосфатазу (IDX).

Тест Фогеса — Проскауэра (VP): ацетилметилкарбинол, образующийся из глюкозы, реагирует с 40% раствором гидроксида калия и 5% раствором альфа-нафтола с образованием красного окрашивания.

Оптоцин (OPT): чувствительность к оптоцину характерна для *Streptococcus pneumoniae*. Другие стрептококки и стафилококки к оптоцину нечувствительны.

Фосфатаза (PHO): щелочная фосфатаза расщепляет п-нитрофенолфосфат на неорганический фосфат и п-нитрофенол, имеющий желтый цвет.

Эскулин желчи (BE): микроорганизмы, способные расти в среде с 40% желчи и гидролизующие эскулин, выявляются по образованию черного осадка в результате реакции продукта гидролиза эскулетина с цитратом железа (III). Стрептококки группы D, некоторые стрептококки группы viridans и некоторые стафилококки имеют положительную реакцию в желчно-эскулиновом тесте.

Пирролидонил и β-нафтиламид (PYR): микроорганизмы, вырабатывающие пирролидоназу, расщепляют L-пирролидонил-β-нафтиламид до L-пирролидона и β-нафтиламида, который реагирует с пептидазным реагентом (п-диметил-аминоциннамальдегид) с образованием красного окрашивания.

Аргинин (ARG): дегидролизация аргинина приводит к ощелачиванию питательной среды, что определяется по изменению цвета индикатора фенолового красного с желтого на красный.

Мочевина (URE): фермент уреазы расщепляет мочевину с образованием аммиака. Это приводит к повышению pH, что определяется с помощью индикатора фенолового красного.

Углеводы (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): ферментация отдельных углеводов приводит к образованию кислот. Результирующее снижение pH определяется с помощью индикатора фенолового красного, изменяющего цвет на желтый.

6,5% NaCl (NACL): устойчивость к 6,5% хлориду натрия продемонстрирована ростом. Устойчивость к действию солевого раствора используется для различения энтерококков и бактерий, не являющихся энтерококками.

Бацитрацин (BAC): на чувствительность микроорганизмов к низким концентрациям бацитрацина указывает отсутствие их роста, что характерно для *Streptococcus pyogenes*.

Пируват (PRV): утилизация пирувата приводит к образованию кислоты. Результирующее снижение pH определяется с помощью индикатора фенолового красного, изменяющего цвет на желтый.

Гемолиз (HEM): вырабатываемые стрептококками стрептолизины S и O вызывают полный или частичный лизис эритроцитов в агаре с овечьей кровью.

3. Идентификация микроорганизмов

Для идентификации неизвестных исследуемых микроорганизмов используют программу Biotype Lookup для панелей MicroScan с сухими средами для грамположительных микроорганизмов. Эта программа была создана на основе собственной базы данных MicroScan. Lookup Program для грамположительных микроорганизмов использует компьютерный анализ 27 тестов для *Streptococcaceae* и 18 тестов для *Micrococcaceae*. Эти тесты переводятся в 9- или 6-значный номер биотипа. Информация по методу регистрации результатов приводится в программе. Эта программа выдает перечень результатов идентификации микроорганизмов и относительные вероятности. Все возможные вероятности перечисляются в порядке уменьшения вероятности, начиная с наиболее высокой; при этом совокупная вероятность составляет 99,9%. Программа состоит из 2 частей: *Micrococcaceae* и *Streptococcaceae*.

При обнаружении биотипа, относящегося к категории «Очень редкий биотип», следует воспользоваться функциями программы LabPro (Utilities (Утилиты)>System (Система)>Biotype Lookup (Поиск биотипа)), службы Biotype Lookup на веб-сайте компании Beckman Coulter или обратиться к местному дистрибьютору.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. В документе M7-A7 CLSI рекомендуется добавление лизированной лошадиной крови в бульон Мюллера — Хинтон при исследовании прихотливых стрептококков. Методика с применением панелей MicroScan с сухими средами для идентификации грамположительных микроорганизмов не согласуется с этой рекомендацией. Если в лунке роста наблюдается недостаточный рост, результаты биохимических реакций считаются недействительными, и следует использовать альтернативный метод.
2. Анаэробные бактерии — панель для идентификации грамположительных микроорганизмов непригодна для тестирования анаэробных грамположительных кокков.
3. Если точность идентификации является низкой (<85%), для окончательной идентификации могут потребоваться дополнительные тесты (см. Аэробные грамположительные микроорганизмы в программе MicroScan Biotype Lookup Program или Microbiology Manual (Руководство по микробиологии)).
4. 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.
5. Номера биотипов не следует использовать для фенотипической идентификации штаммов, выделенных из различных образцов от одного пациента.
6. Резистентные к ванкомицину бактерии *E. faecium* можно отличить от бактерий *E. gallinarum* по их подвижности и по выработке пигмента. Дополнительная информация приводится в таблице дополнительных тестов Microbiology Manual (Руководство по микробиологии).

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Ожидаемые значения при использовании биохимических субстратов приводятся в Percent Chart (Процентная таблица) в Microbiology Manual (Руководство по микробиологии).

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Пригодность сред для идентификации должна проверяться на микроорганизмах с известными реакциями. Результаты для рекомендуемых контрольных микроорганизмов American Type Culture Collection (ATCC) перечислены в приведенной ниже таблице.*

*Американская коллекция типовых культур, Manassas, VA USA.

Таблица контроля качества для субстратов для идентификации с помощью панелей с сухими средами для грамположительных микроорганизмов

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	Н/П	Н/П
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	Н/П
NOV ²	-	Н/П	-	Н/П
PGR ²	-	-	-	Н/П
IDX	+	Н/П	Н/П	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	Н/П
PHO	+	Н/П	-	Н/П
BE	-	+	+	Н/П
PYR	Н/П	+	-	Н/П
ARG	+	+	-	Н/П
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	Н/П
MAN	+	+	+	-
LAC	+	Н/П	+	-
TRE	Н/П	+	+	-
MNS	Н/П	+	+	-
NACL	Н/П	+	-	Н/П
SOR	Н/П	+	-	Н/П
ARA ²	Н/П	-	-	Н/П
RBS	Н/П	+	-	Н/П
INU	Н/П	-	+	Н/П
RAF	Н/П	-	+	Н/П
BAC ²	Н/П	+	+	Н/П
PRV	Н/П	+	-	Н/П

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Информация о дополнительных положительных или отрицательных реакциях для каждого биохимического субстрата приводится в таблице дополнительных тестов.

3. Может потребоваться инкубация в течение 24 часов.

Н/П — неприменимо

ПРИМЕЧАНИЕ. Контрольные микроорганизмы выбираются для обеспечения положительных/отрицательных реакций для всех субстратов для идентификации. В результате этого идентификации микроорганизма могут отличаться от идентификации, указанной в таблице контроля качества. Приемлемость рабочих характеристик изделия должна определяться путем сравнения результатов тестов, но не данных по идентификации.

Таблица дополнительных тестов

Микроорганизм	Субстрат	Ожидаемый результат
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Идентификация

Рабочие характеристики панели MicroScan с сухими средами для грамположительных микроорганизмов типа 3 установлены на основании испытания панели типа 2 с сухими средами для грамположительных микроорганизмов в многоцентровом исследовании. Клинические изоляты и исходные штаммы исследовались с использованием панели с сухими средами для идентификации грамположительных микроорганизмов типа 3, а также с использованием стандартных методик с культивированием в пробирках для моделирования популяции бактерий, ожидаемой в стандартной клинической лаборатории. См. MicroScan System Microbiology Information Manual (Section 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria) (Справочное руководство по микробиологии системы MicroScan (Раздел 4: стандартные панели с сухими средами для грамположительных микроорганизмов: грамположительные аэробные бактерии)), чтобы узнать полный перечень микроорганизмов, вошедших в базу данных.

Результаты исследования бактерий семейства *Micrococcaceae* при использовании панелей с сухими средами для идентификации грамположительных микроорганизмов типа 3 согласовались при идентификации бактерий до уровня как вида, так и группы для 97,5% (157 из 161) изолятов. Только для 5,6% (9 из 161) изолятов потребовались дополнительные исследования для подтверждения при низкой вероятности идентификации видовой принадлежности или групповой принадлежности.

Результаты исследований бактерий семейства *Streptococcaceae* при использовании панелей с сухими средами для идентификации грамположительных микроорганизмов типа 3 согласовались при идентификации бактерий до уровня вида для 91,3% (230 из 252) изолятов, а до уровня группы — для 92,1% (232 из 252) изолятов. Только для 14,3% (36 из 252) изолятов потребовались дополнительные исследования для подтверждения при низкой вероятности идентификации видовой принадлежности, а также для 4,4% (11 из 252) изолятов — для подтверждения при низкой вероятности групповой принадлежности.

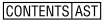
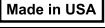
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

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

Ключ символов

Символ	Название символа	Описание стандарта	Стандарт
	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 in vitro	Обозначает медицинское изделие, предназначенное для использования при диагностике in vitro.	ISO 15223-1, пункт 5.5.1
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Priručnik za postupke za identifikaciju gram-pozitivnih bakterija tipa 3)

REF B1017-221

NAMJENA

Za upotrebu s panelima tipa 3 za identifikaciju osušenih gram-pozitivnih bakterija MicroScan. Paneli tipa 3 za identifikaciju osušenih gram-pozitivnih bakterija MicroScan namijenjeni za identifikaciju na razini vrste brzorastućih aerobnih i fakultativnih gram-pozitivnih koka, nekih osjetljivih aerobnih gram-pozitivnih koka i bakterija *Listeria monocytogenes*. Upute za upotrebu s osjetljivim streptokokima potražite u odjeljku Ograničenja postupka.

SAŽETAK I NAČELA

Izmijenjeni konvencionalni i kromogeni testovi upotrebljavaju se za identifikaciju *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* i *Listeria monocytogenes*. Identifikacija se temelji na otkrivanju pH promjena, uporabi supstrata i rastu u prisutnosti antimikrobnih sredstava nakon inkubacije 16 – 44 sata pri 35 °C.^{1,2,3,4,5,6,7}

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Samo za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.
2. Tijekom svih postupaka pridržavajte se aseptičnih tehnika i uhodanih mjera opreza pri radu s mikrobiološkim opasnim tvarima uz posebnu svijest da inokulirani paneli sadrže potencijalno patogene organizme.
3. Ovaj materijal sadrži zarazne agense te ga se treba odlagati na način primjeren rukovanju biološki opasnim otpadom.
4. Rezultate ovog testa uvijek treba tumačiti u kombinaciji s pacijentovom poviješću bolesti, kliničkom slikom i drugim nalazima.
5. Jažica za rast i OPT sadrži 0,005 % kristaliziranog goveđeg hemina.

POHRANA

Paneli osušenih gram-pozitivnih bakterija moraju se čuvati na temperaturi od 2 – 25 °C.

KLASIFIKACIJA GHS OPASNOSTI

Nije klasificiran kao opasan



Sigurnosno-tehnički list dostupan je na techdocs.beckmancoulter.com

DOKAZ PROPADANJA

Produljeno izlaganje uvjetima skladištenja drukčijima od preporučenih može dovesti do hidrolize supstrata za identifikaciju. Nemojte koristiti nakon isteka roka valjanosti. Za dalju pomoć obratite se predstavniku ili distributeru tvrtke Beckman Coulter.

PRIKUPLJANJE I PRIPREMA UZORAKA

Odgovarajuće uzorke treba prikupiti, transportirati i smjestiti na medije za primarnu izolaciju u skladu s postupcima preporučenima u priručniku *Manual of Clinical Microbiology* (Priručnik za kliničku mikrobiologiju).⁸

DOSTAVLJENI PRIJEVODI

Identifikacija gram-pozitivnih bakterija tipa 3 (B1017-221)

Priručnik za postupke

POTREBNI MATERIJALI, KOJI NISU DIO KOMPLETA

0,5 po McFarlandovom standardu zamućenosti

0,5-postotni N, N-dimetil-alfa-naftilamin, 30 mL (B1010-45A) ili 250 mL (B1015-45)

0,8-postotna sulfanilna kiselina, 30 mL (B1010-44A) ili 250 mL (B1015-44)

Pipetor od 100 µL s jednokratnim sterilnim nastavcima

5-postotni alfa-naftol, 30 mL (B1010-42A)

40-postotni kalijev hidroksid, 30 mL (B1010-43A) ili 250 mL (B1015-43)

Pločice za prekrivanje (B1010-56B)

Opća laboratorijska oprema

Komplet inokulatora-D (B1013-4)

Voda za inokulum, 3 mL (B1015-2)

Voda za inokulum s PLURONIC®-om, 25 mL (B1015-7)*

*PLURONIC® surfaktanti, registrirani žig tvrtke BASF Corporation, Parsippany, NJ USA
C29873-AB 106 of 148

Preglednik za mikrodiluciju

Mineralno ulje, 60 mL (B1010-40)

Mineralno ulje, 250 mL (B1010-40A) – SAMO za upotrebu s instrumentima WalkAway *SI* i WalkAway *plus* (te instrumentima WalkAway nadograđenima značajkom automatiziranog prekrivanja uljem)

Sustav za inokulaciju Prompt® (B1026-10D)**

Organizmi za kontrolu kvalitete (pogledajte odjeljak Kontrola kvalitete u ovom priručniku)

Reagens peptidaza, 30 mL (B1012-30B) ili 250 mL (B1015-30)

Komplet za ispuštanje reagensa (B1013-12A)

Rehidrator/inokulator RENOK (B1018-14) ili njegov ekvivalent

Mjerač zamućenosti

Vorteks

Papir s naljepnicom s barkodom (B1018-129)

Poklopci za WalkAway posudice (B1018-18)

POSTUPAK

Priprema panela

1. Panele koje ćete koristiti izvadite iz mjesta na kojem ih čuvate. **Paneli se ne smiju koristiti ako je došlo do bilo čega od navedenog u nastavku.**
 - A. Desikanta nema ili je oštećen.
 - B. Jažice panela promijenile su boju (npr. PHO).
 - C. Ambalaža je oštećena (nije tvornički zatvorena, probušena je ili poderana).
2. Razrežite vrećicu i izvadite panel. Ako ste ga čuvali u hladnjaku, odmah izvadite panel iz vrećice od folije. Pustite da se temperatura panela prije rehidracije izjednači sa sobnom temperaturom. Panele možete poslagati jedan na drugi tako da na vrhu bude čista pločica za prekrivanje. Sve otvorene panele treba upotrijebiti istog dana ili ih baciti.

Identifikacija gram-pozitivnih bakterija tipa 3

Supstrati za identifikaciju	Kratica	Supstrati za identifikaciju	Kratica
Kristal-violet	CV	urea	URE
Probir mikrokoka	MS	Manitol	MAN
Nitrat	NIT	Laktoza	LAC
Novobiocin	NOV	Trehaloza	TRE
PNP-β-D-glukoronid	PGR	Manoza	MNS
Indoksil fosfataza	IDX	Natrijev klorid 6,5 %	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbitol	SOR
Optohin	OPT	Arabinoza	ARA
Fosfataza	PHO	Riboza	RBS
40 % žučni eskulin	BE	Inulin	INU
L-pirolidonil-β-naftilamid	PYR	Rafinoza	RAF
Arginin	ARG	Bacitracin	BAC
PNP-β-D-galaktopiranozid	PGT	Piruvat	PRV

Priprema inokuluma

CLSI preporučuje redovitu provjeru gustoće inokuluma prebrojavanjem kolonija. Preporuke za prebrojavanje kolonija potražite u odjeljku 10.3.1.3 CLSI-jeva dokumenta M7-A7. Očekivani rezultat za *E. coli* ATCC 25922 trebao bi vrlo malo odstupati od 5×10^5 CFU/mL za konačne koncentracije testa.⁹ Korisnik treba vrlo pažljivo pripremati inokulum, osobito ako koristi ručne metode koje ovise o tehnici, poput sustava Prompt ili pripreme inokuluma bez pomoći fotometrijskog uređaja.

Napomena: proizvodi MicroScan ne podržavaju tehnike vezane uz logaritamsku i stacionarnu fazu.

1. Tehnika sa standardom zamućenosti – metoda primarne inokulacije

Za izravnu inokulaciju svih aerobnih gram-pozitivnih koka preporučuje se tehnika sa standardom zamućenosti.

- A. Koristeći sterilni aplikacijski štapić, petlju ili štapić za uzorke dodirnite površinu 4 – 5 većih ili 5 – 10 manjih morfološki sličnih, dobro izoliranih kolonija s neinhibitorske pločice s hranjivom podlogom koja je stajala između 18 i 24 sata.

**3M, St. Paul, MN USA

- B. Emulgirajte u 3 mL vode za inokulum (autoklavirane deionizirane vode). Konačna zamućenost trebala bi biti ekvivalentna vrijednosti 0,5 po McFarlandovu standardu zamućenosti. Ekvivalentna zamućenost može se postići primjenom mjerača zamućenosti MicroScan s rasponom od $0,08 \pm 0,02$. Čvrsto zatvorite.
- C. Suspenziju miješajte u vorteks-miješalici 2 do 3 sekunde.
- D. Pipeta s 0,1 mL (100 μ L) standardizirane suspenzije u 25 mL vode za inokulum s PLURONIC-om. Čvrsto zatvorite. Preokrenite 8 – 10 puta da biste pomiješali sadržaj.

2. Sustav Prompt

Sustav Prompt može se upotrebljavati za brži rast gram-pozitivnih koka. Informacije o pravilnoj uporabi sustava Prompt potražite u priručniku Prompt Inoculation Procedural Manual (Priručnik za postupke inokulacije pomoću sustava Prompt).

Napomena: upotrebljavati oprezno. Do nedovoljne inokulacije može doći kod organizama koji ne zadovoljavaju preduvjet veličine. Nedovoljna inokulacija može uzrokovati pogrešne rezultate testa za identifikaciju.

Rehidracija/inokulacija panela

Rehidracija i inokulacija izvode se pomoću sustava RENOK s uređajima Inoculators-D (B1013-4). Pogledajte RENOK Operator's Manual for use (Korisnički priručnik za operatore sustava RENOK). Ako koristite neki drugi sustav, rehidrirajte sa $115 + 10 \mu\text{L}$ vode za inokulum (PLURONIC). Potrebno je postići konačnu koncentraciju u jažici od $3 - 7 \times 10^5$ CFU/mL.

Da bi se omogućile održivost i čistoća testiranih organizama, pločicu za čistoću treba pripremiti razvlačenjem inokuluma na odgovarajućoj pločici s agarom i inkubacijom u odgovarajućim uvjetima. Ako su na pločici za čistoću prisutne dvije vrste kolonija ili više njih, ponovno izolirajte kolonije i ponovite testiranje.

Biokemijsko prekrivanje

1. S pomoću bočice spremnika prekrijte jažice ARG i URE s najmanje 3 kapi mineralnog ulja. (Te su jažice podcrtane na panelu.)
2. Mediji u jažicama moraju biti posve prekriveni mineralnim uljem, ali se ulje ne smije prelijevati iz jažica.

Napomena: instrumenti WalkAway *SI* i WalkAway *plus* (te instrumenti WalkAway nadograđeni značajkom automatiziranog prekrivanja uljem) automatski dodaju ulje u odgovarajuće jažice.

Inkubacija

1. Paneli se mogu inkubirati u sustavu WalkAway ili neovisno primjenom sljedećih koraka:
 - A. Da biste osigurali ujednačenu termalnu distribuciju tijekom inkubacije, panele slažite u grupe od 3 – 5 komada.
 - B. Postavite čistu pločicu za prekrivanje na svaku grupu panela da biste spriječili isparavanje. Pločice za prekrivanje mogu se koristiti više puta. Pločice za prekrivanje nemojte dekontaminirati alkoholom. Možete ih čistiti sredstvom za čišćenje i vodom. Dobro ih isperite i pustite da se osuše na zraku.
 - C. Inkubirajte panele najmanje 16 – 20 sati pri temperaturi od 35 °C u inkubatoru u kojem se ne koristi CO₂.

Očitavanje panela

Paneli se mogu čitati ručno pomoću preglednika za mikrodiluciju MicroScan i rezultata zabilježenih na radnom listu Manual Panel Worksheet (Radni list za ručni panel) (u ovom Priručniku za postupke pogledajte odjeljak Potrebni materijali koji nisu priloženi) ili na instrumentima MicroScan (sustavima touchSCAN-SR, autoSCAN-4 i WalkAway). Upute za očitavanje panela pomoću instrumenata MicroScan potražite u odgovarajućem priručniku za operatore.

1. Nakon 16 – 20 sati inkubacije izvadite panele iz inkubatora.
2. Obrišite dno panela krpom koja ne ostavlja dlačice da biste uklonili kondenzat ili nečistoće koji su se ondje možda nakupili.
3. Očitajte panele samo ako je kontrolna jažica bistra, a jažica za kontrolu rasta zamućena. Zamućenje može poprimiti oblik bijele pjenice u cijeloj jažici, oblik kruga u sredini jažice ili oblik sitnog granularnog rasta u cijeloj jažici. Neadekvatan rast definira se ako je sadržaj jažice bjelkast ili je bujon bistar.
4. Ako se rezultati očitavaju ručno, zabilježite ih na odgovarajućem radnom listu.
5. Očitavanje identifikacijskih supstrata
 - A. Očitajte sve supstrate za identifikaciju uz bijelu pozadinu, osim CV, MS, NOV, OPT, NACL i BAC, koje je potrebno čitati uz crnu (neizravno osvijetljenu) pozadinu.
 - B. Rezultati IDX i PHO zabilježeni su nakon inkubacije tijekom 16 – 20 sati.
 - C. Panele s negativnim PGT-om i manje od 3 pozitivna ugljikohidrata potrebno je ponovno inkubirati na dodatna 24 sata prije izvršavanja završnog očitavanja i identifikacije.
 - D. Samo se panelima s 3 ugljikohidrata ili panelima pozitivnima na PGT reakciju smiju dodati reagensi tijekom 16 – 20 sati. U vremenu 40 – 44 sata dodajte reagense bez obzira na broj pozitivnih testova.
 - E. Prije dodavanja reagensa zabilježite sve pozitivne reakcije.
 - F. Dodajte reagense kako slijedi:

- Dodajte jednu kap 40-postotnog kalijeva hidroksida (KOH-a) i jednu kap 5-postotnog alfa-naftola u jažicu s VP-om. Prije očitavanja pričekajte barem 20 minuta da se VP reakcija razvije.
- Dodajte jednu kap 0,8-postotne sulfanilne kiseline i jednu kap 0,5-postotnog N,N-dimetil-alfa-naftilamina u jažicu za NIT. Pričekajte barem 5 minuta da se NIT reakcija razvije prije očitavanja.
- U jažicu PYR dodajte 2 kapi reagensa peptidaze. Prije očitavanja pričekajte 2 minute.

G. Za pomoć pri biokemijskom tumačenju pogledajte odjeljak REZULTATI.

REZULTATI

1. Biokemijska tumačenja

Jažica	Reagens	Pozitivno	Negativno
CV MS NOV OPT NACL BAC		Rast	Nema rasta
NIT	Dodajte jednu kap 0,8-postotne sulfanilne kiseline i jednu kap 0,5-postotnog N,N-dimetil-alfa-naftilamina. Pričekajte 5 minuta da se reakcija razvije.	Od ružičastog do crvenog	Bistro (bezbojno) može biti vrlo blijedoružičasto
PGR PHO PGT IDX	Bilo koja nijansa žute treba se tumačiti kao pozitivna. Upotrijebite jažicu NOV kao negativnu kontrolu.	Žuta	Bistar (bezbojan)
VP	Dodajte jednu kap 40-postotnog KOH-a i jednu kap 5-postotnog alfa-naftola. Pričekajte barem 20 minuta da se reakcija razvije.	Od ružičastog do crvenog	Bistro (bezbojno) do smeđe, može biti zamućeno ili vrlo blijedoružičasto
BE		Od tamnosmeđe do crne	Prozirni (bezbojni) do svijetlosmeđi
PYR	Dodajte 2 kapi reagensa peptidaze. Pričekajte 2 minute da se reakcija razvije.	Crvena / od narančaste do crvene	Od žute do narančaste/crvene
ARG		Ružičasta / od narančaste do ružičaste	Od žutog do narančastog
URE		Ružičasta	Od žutog do narančastog
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Svaka naznaka narančaste boje trebala bi se smatrati negativnom.	Žuta	Od narančastog do crvenog
HEM		Beta	Alfa ili gama
LOC	Samo za raspoznavanje panela sustava autoSCAN-4 i WalkAway.		

Identifikacija osušenih gram-pozitivnih bakterija – pojednostavnjena kontrola kvalitete identifikacije ¹					
Organizam za kontrolu kvalitete	ATCC broj	Supstrat ključnog indikatora	Očekivani rezultat	Rezultat izvan specifikacija	Labilni supstrat
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	da

1. Ključni indikatori za kontrolu kvalitete dostupni su za pojednostavnjenu kontrolu kvalitete u skladu CLSI-jevim dokumentom M50-A.¹⁰ Prije implementacije programa pojednostavnjene kontrole kvalitete pogledajte pojedinosti u dokumentu M50-A te se obratite odgovarajućim regulatornim tijelima i inspeksijskim skupinama radi potvrđivanja prihvatljivosti.

2. Načela reakcija identifikacija

Kristalviolet (CV): rast u prisutnosti niske koncentracije kristalviolet bojila koristi se za razlikovanje streptokoka (pozitivnih) od stafilokoka (uglavnom negativnih).

Zaslon za mikrokoke (MS): rast u prisutnosti niskih koncentracija bacitracina (0,05 µg/mL) koristi se za razlikovanje stafilokoka (pozitivnih) od mikrokoke (negativnih).

Nitrati (NIT): smanjenje nitrata otkriva se na temelju nastanka crvene boje nakon dodavanja 0,8-postotne sulfanilne kiseline i 0,5-postotnog N,N-dimetil-alfa-naftilamina. Streptokoki su negativni na nitrata, a većina stafilokoka je pozitivna na nitrata.

Novobiocin (NOV): otpornost na niske koncentracije (1,6 µg/mL) novobiocina karakteristika je nekih stafilokoka.

Glikozidaze (PGR, PGT): sposobnost organizma da stvara određeni enzim glikozidaze otkriva se na temelju razdvajanja kompleksa p-nitrofenil-ugljikohidrata koji otpušta p-nitrofenol, koji je žute boje.

Indoksil fosfataza (IDX): hidroliza indoksil fosfata enzimskom indoksil fosfatazom rezultira netopivim plavim spojem. Većina stafilokoka pozitivnih na koagulazu i DNazu pozitivna je na IDX.

Voges-Proskauer (VP): acetilmetilkarbinol, koji nastaje iz glukoze, reagira s 40-postotnim kalijevim hidroksidom i 5-postotnim alfa-naftolom radi stvaranja crvene boje.

Optohin (OPT): osjetljivost na optohin karakteristika je bakterije *Streptococcus pneumoniae*. Optohin ne inhibira druge streptokoke ni stafilokoke.

Fosfataza (PHO): alkalna fosfataza razdvaja p-nitrofenil fosfat na neorganski fosfat i p-nitrofenol, koji je žute boje.

Žučni eskulin (BE): organizmi sposobni za rast u 40-postotnoj žuči i hidrolizirajućem eskulinu otkrivaju se na temelju proizvodnje crnog precipitata nastalog reakcijom eskuletina hidrolitičkog proizvoda sa željezovim citratom. Streptokoki iz skupine D, neki viridans streptokoki i neki stafilokoki pozitivni su na BE.

Pirolidonil-beta-naftilamid (PYR): organizmi koji proizvode pirolidonazu razdvajaju L-pirolidonil-beta-naftilamid na L-pirolidon i beta-naftilamin, koji se kombinira s reagensom peptidaza (p-dimetil-aminocinamaldehydom) radi stvaranja crvene boje.

Arginin (ARG): dehidrolizacija arginina rezultira alkanizacijom medija koja se detektira na temelju promjene žute boje u crvenu na crvenom indikatoru za fenol.

Urea (URE): enzim ureaza dijeli ureju koji stvara amonijak. Posljedično povišenje pH vrijednosti otkriva crveni indikator fenola.

Ugljikohidrati (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): fermentacija određenog ugljikohidrata rezultira stvaranjem kiseline. Posljedični pad pH vrijednosti otkriva se na temelju žute boje na indikatoru za fenol.

6,5 % NaCl (NACL): tolerancija na 6,5-postotni natrijev klorid pokazuje se rastom. Tolerancija na sol koristi se za razlikovanje enterokoka od neenterokoka.

Bacitracin (BAC): osjetljivost na niske koncentracije bacitracina indicirana je izostankom rasta i karakteristika je bakterije *Streptococcus pyogenes*.

Piruvat (PRV): upotreba piruvata rezultira stvaranjem kiseline. Posljedični pad pH vrijednosti otkriva se na temelju žute boje na indikatoru za fenol.

Hemoliza (HEM): streptolizin S i O, koje stvaraju streptokoki, uzrokuju potpunu ili djelomičnu lizu eritrocita u agaru koji sadrži ovčju krv.

3. Identifikacija organizama

Program za traženje biotipa Biotype Lookup Program za osušene gram-pozitivne bakterije MicroScan koristi se za identifikaciju nepoznatih testiranih organizama. Taj je program generiran iz baze podataka tvrtke MicroScan. Lookup Program za traženje gram-pozitivnih bakterija za računalnu analizu 27 testova za *Streptococcaceae* i 18 testova za *Micrococcaceae*. Ti se testovi preslikavaju u biotip s 9 ili 6 znamenki. Informacije o metodi bilježenja rezultata potražite u tom programu. U programu su navedene vjerojatnosti identifikacije organizama i relativne vjerojatnosti. Sve su vjerojatnosti navedene redoslijedom od najveće vjerojatnosti do kumulativne ukupne vrijednosti od 99,9 %. Program je podijeljen na dva 2 dijela: *Micrococcaceae* i *Streptococcaceae*.

Ako se pojavi biotip označen kao „Very Rare Biotype” (Vrlo rijedak biotip), pogledajte softver LabPro (Utilities (Uslužni alati)>System (Sustav)>Biotype Lookup (Traženje biotipa)), Biotype Lookup Service (Servis za traženje biotipa) na web-mjestu tvrtke Beckman Coulter ili se obratite lokalnom distributeru.

OGRANIČENJE POSTUPKA

1. CLSI-jev dokument M7-A7 preporučuje nadomjestak Mueller-Hintonova bujona s liziranom konjskom krvlju prilikom testiranja osjetljivih streptokoka. Postupak za panele za osušene gram-pozitivne bakterije MicroScan razlikuje se od ove preporuke. Ako se u jažici za rast ne primijeti dovoljan rast, biokemijski rezultati nisu valjani i potrebno je upotrijebiti drugu metodu.
2. Anaerobne bakterije – panel za identifikaciju gram-pozitivnih bakterija nije prikladan za testiranje anaerobnih gram-pozitivnih koka.
3. Možda će biti potrebni dodatni testovi radi konačne nepobitne identifikacije u slučaju da dođe do identifikacije s malom vjerojatnošću (<85 %) (pogledajte MicroScan Biotype Lookup Program za aerobne gram-pozitivne organizme ili Microbiology Manual (Mikrobiološki priručnik)).
4. Tumačenje rezultata testiranja zahtijeva obučeno kliničko osoblje koje će koristiti vlastitu prosudbu, znanje, a po potrebi i dodatna testiranja radi potvrde prije nego što prihvati identifikaciju organizma.
5. Brojevi biotipova ne smiju se koristiti za identifikaciju fenotipa sojeva izoliranih iz različitih uzoraka uzetih od istog bolesnika.

6. Na vankomicin otporna bakterija *E. faecium* može se razlikovati od bakterije *E. gallinarum* provjerom pokretljivosti i stvaranja pigmenta. Dodatne informacije potražite u tablici dodatnih testova u priručniku Microbiologics Manual (Mikrobiološki priručnik).

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

Očekivane vrijednosti s biokemijskim supstratima potražite na dijagramu Percent Chart (Postotni dijagram) u priručniku Microbiologics Manual (Mikrobiološki priručnik).

KONTROLA KVALITETE

Prihvatljivost medija za identifikaciju treba provjeriti testiranjem organizama s poznatim reakcijama. U sljedećoj su tablici navedeni rezultati za preporučene kontrolne organizme iz američke zbirke American Type Culture Collection (ATCC).*

Tablica kontrole kvalitete za supstrat za identifikaciju osušenih gram-pozitivnih bakterija

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	Nije primjenjivo	Nije primjenjivo
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	Nije primjenjivo
NOV ²	-	Nije primjenjivo	-	Nije primjenjivo
PGR ²	-	-	-	Nije primjenjivo
IDX	+	Nije primjenjivo	Nije primjenjivo	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	Nije primjenjivo
PHO	+	Nije primjenjivo	-	Nije primjenjivo
BE	-	+	+	Nije primjenjivo
PYR	Nije primjenjivo	+	-	Nije primjenjivo
ARG	+	+	-	Nije primjenjivo
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	Nije primjenjivo
MAN	+	+	+	-
LAC	+	Nije primjenjivo	+	-
TRE	Nije primjenjivo	+	+	-
MNS	Nije primjenjivo	+	+	-
NACL	Nije primjenjivo	+	-	Nije primjenjivo
SOR	Nije primjenjivo	+	-	Nije primjenjivo
ARA ²	Nije primjenjivo	-	-	Nije primjenjivo
RBS	Nije primjenjivo	+	-	Nije primjenjivo
INU	Nije primjenjivo	-	+	Nije primjenjivo
RAF	Nije primjenjivo	-	+	Nije primjenjivo
BAC ²	Nije primjenjivo	+	+	Nije primjenjivo
PRV	Nije primjenjivo	+	-	Nije primjenjivo

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Dodatne pozitivne ili negativne reakcije za svaki biokemijski rezultat po potrebi potražite u tablici dodatnih testova.

3. Može biti potrebna 24-satna inkubacija.

N/A = nije primjenjivo

NAPOMENA: organizmi za kontrolu kvalitete biraju se tako da omogućuju pozitivne/negativne reakcije za sve identifikacijske supstrate. Zato se identifikacije organizama mogu razlikovati od onih navedenih na dijagramu kontrole kvalitete. Prihvatljivost performansi proizvoda potrebno je utvrditi usporedbom rezultata testa, a ne identifikacijom.

Dodatni stol za testiranje

Organizam	Supstrat	Očekivani rezultat
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

RADNE ZNAČAJKE

Identifikacija

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

Tvrdnje o performansama panela tipa 3 za osušene gram-pozitivne bakterije MicroScan temelje se na upotrebi panela tipa 2 za osušene gram-pozitivne bakterije u multicentričnom ispitivanju. Klinički izolati i gotovi sojevi testirani su na panelu tipa 3 za identifikaciju osušenih pozitivnih bakterija i konvencionalnim cijevnim metodologijama radi predstavljanja vrste bakterijske populacije očekivane u uobičajenom kliničkom laboratoriju. U priručniku MicroScan System Microbiologics Information Manual (Mikrobiološki informativni priručnik za sustave MicroScan) u odjeljku Section 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria (Odjeljak 4: Konvencionalni paneli za osušene gram-pozitivne bakterije: gram pozitivne aerobne bakterije) potražite detaljan popis organizama uvrštenih u bazu podataka.

Rezultati dobiveni primjenom panela tipa 3 za identifikaciju osušenih gram-pozitivnih bakterija *Micrococcaceae* na razini vrste i na razini skupine bili su u skladu s 97,5 % (157/161) izolata. Za samo 5,6 % (9/161) izolata bili su potrebni dodatni testovi da bi se potvrdila identifikacije s malom vjerojatnošću na razini vrste ili na razini skupine.

Rezultati primjene panela tipa 3 za identifikaciju osušenih gram-pozitivnih bakterija *Streptococcaceae* bili su u skladu s razinom za vrstu s 91,3 % (230/252) i u skladu s razinom za skupinu s 92,1 % (232/252). Samo 14,3 % (36/252) izolata trebalo je dodatne testove radi potvrde identifikacije vrsta s malom vjerojatnošću i 4,4 % (11/252) za potvrdu identifikacije grupne razine s malom vjerojatnošću.

JAMSTVENA IZJAVA

Na sustav se primjenjuju jamstvene odredbe navedene u ugovornom sporazumu za sustav ili njegove reagense. Kupac je odgovoran za postupke rutinskog preventivnog održavanja. Popravci proizašli iz neprovođenja tih postupaka održavanja u naznačenim vremenskim intervalima obavljaju se po nahođenju tvrtke Beckman Coulter i na trošak kupca.

Legenda simbola

Legenda simbola			
Simbol	Naziv simbola	Opis standarda	Standard
	Nemojte ponovno upotrijebiti	Označava medicinski proizvod za jednokratnu upotrebu ili upotrebu na jednom bolesniku tijekom jednog zahvata.	ISO 15223-1, 5.4.2
	Rok upotrebe	Označava datum nakon kojeg se medicinski proizvod više ne smije koristiti.	ISO 15223-1, 5.1.4
	Šifra serije	Označava proizvođačevu šifru serije radi prepoznavanja serije ili šarže.	ISO 15223-1, 5.1.5
	Kataloški broj	Označava proizvođačev kataloški broj za prepoznavanje medicinskog proizvoda.	ISO 15223-1, članak 5.1.6
	Proizvođač	Označava proizvođača medicinskog proizvoda kako je definiran direktivama EU-a 90/385/EEZ, 93/42/EEZ i 98/79/EZ.	ISO 15223-1, članak 5.1.1
	Datum proizvodnje	Označava datum proizvodnje medicinskog proizvoda.	ISO 15223-1, 5.3.1
	Ovlašteni predstavnik u Europskoj zajednici	Označava ovlaštenog predstavnika u Europskoj zajednici.	ISO 15223-1, članak 5.1.2
	Sadrži dovoljnu količinu za sljedeći broj testova: <n>	Označava ukupni broj in vitro dijagnostičkih (IVD) testova koje je moguće provesti pomoću proizvoda za in vitro dijagnostiku. (Obično se nalazi na kompletima reagensa.)	ISO 15223-1, 5.5.5
	Medicinski proizvod za in vitro dijagnostiku	Označava medicinski proizvod koji je namijenjen za upotrebu kao medicinski proizvod za in vitro dijagnostiku.	ISO 15223-1, članak 5.5.1

Legenda simbola

Simbol	Naziv simbola	Opis standarda	Standard
	Ograničenje temperature	Naznačuje granične temperature kojima je moguće bez opasnosti izlagati medicinski proizvod.	ISO 15223-1, 5.3.7
	Pročitajte upute za uporabu	Označava da korisnik treba pročitati upute za uporabu.	ISO 15223-1, 5.4.3
	Oznaka CE	Regulatorna oznaka usklađenosti s europskim propisima	nije primjenjivo
	Sadržaj	nije primjenjivo	nije primjenjivo
	Sadržaj (pakiranje)	Antimikrobni agens (kratica)	nije primjenjivo
	Sadržaj (pakiranje)	Identifikacijski supstrat (kratica)	nije primjenjivo
	Sigurnosno-tehnički list	Označava sigurnosno-tehnički list.	nije primjenjivo
	Proizvedeno u SAD-u	nije primjenjivo	nije primjenjivo
	Samo za izvoz	nije primjenjivo	nije primjenjivo
	Rekonstitucijski volumen	nije primjenjivo	nije primjenjivo
	Lomljivo, rukujte oprezno	Označava medicinski proizvod koji je moguće slomiti ili oštetiti ako se njime ne rukuje oprezno.	ISO 15223-1, 5.3.1
	Ovu stranu okrenite prema gore	Označava pravilan 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: Medicinski proizvodi – simboli za upotrebu u označivanju medicinskih proizvoda i informacijama uz medicinske proizvode. 1. dio: Opći zahtjevi).			

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter navedeni ovdje žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u SAD-u i drugim državama.

MicroScan

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Proceduralno uputstvo za gram pozitivni ID 3)

REF B1017-221

NAMENA

Za upotrebu sa MicroScan isušanim panelima pozitivnog ID-a tipa 3. MicroScan isušeni paneli pozitivnog ID-a tipa 3 su namenjeni za upotrebu u određivanju identifikacije brzo rastućih aerobnih i fakultativnih gram pozitivnih koka, nekih zahtevnih aerobnih gram pozitivnih koka i *Listeria monocytogenes* na nivou vrste. Pogledajte odeljak Ograničenja postupka za upotrebu sa zahtevnim streptokokama.

KRATAK PREGLED I PRINCIP

Izmenjeni konvencionalni i hromogeni testovi koriste se za identifikaciju *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* i *Listeria monocytogenes*. Identifikacija se zasniva na otkrivanju promena pH vrednosti, iskorišćenja supstrata i rasta u prisustvu antimikrobnih sredstava nakon 16–44 sata inkubacije na 35°C.^{1,2,3,4,5,6,7}

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Samo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
2. Pridržavajte se aseptičkih tehnika i utvrđenih mera predostrožnosti protiv mikrobioloških opasnosti tokom svih procedura, uz posebnu napomenu da inokulisani paneli sadrže potencijalno patogene organizme.
3. Ovaj materijal sadrži infektivne agense i prema potrebi ga treba odbaciti kao biološki opasan otpad.
4. Rezultate ovog testa treba uvek tumačiti zajedno sa medicinskom istorijom pacijenta, kliničkom slikom i drugim nalazima.
5. Bunarčić za rast i OPT bunarčić sadrže 0,005% kristalnog goveđeg hemina.

ČUVANJE

Isušeni gram pozitivni paneli moraju se čuvati na temperaturi od 2 do 25°C.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno



Bezbednosni list je dostupan na internet adresi
techdocs.beckmancoulter.com

DOKAZI POGORŠANJA

Dugotrajno izlaganje uslovima skladištenja, osim onih preporučenih, može dovesti do hidrolize supstrata za identifikaciju. Ne koristiti nakon datuma isteka roka trajanja. Obratite se predstavniku kompanije Beckman Coulter ili distributeru za dodatnu pomoć.

PRIKUPLJANJE I PRIPREMA UZORAKA

Odgovarajuće uzorke treba prikupiti, preneti i staviti na primarni izolacioni medijum prema procedurama koje se preporučuju u dokumentu *Manual of Clinical Microbiology* (Uputstvo za kliničku mikrobiologiju).⁸

ISPORUČENI MATERIJALI

Poz ID tip 3 (B1017-221)

Proceduralno uputstvo

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

Mekfarlandov standard zamućenosti 0,5

0,5% N, N-dimetil-alfa-naftilamin, 30 ml (B1010-45A) ili 250 ml (B1015-45)

0,8% sulfanilna kiselina, 30 ml (B1010-44A) ili 250 ml (B1015-44)

Pipeta od 100 µl sa nastavcima za jednokratnu upotrebu

5% alfa naftol, 30 ml (B1010-42A)

40% kalijum hidroksid, 30 ml (B1010-43A) ili 250 ml (B1015-43)

Posude za pokrivanje (B1010-56B)

Opšta laboratorijska oprema

Komplet inokulatora-D (B1013-4)

Voda za inokulum, 3 ml (B1015-2)

Voda za inokulum sa PLURONIC®, 25 ml (B1015-7)*

*PLURONIC® surfaktanti, registrovani žig kompanije BASF Corporation, Parsippany, NJ USA
C29873-AB 114 of 148

Prikazivač mikrodilucije

Mineralno ulje, 60 ml (B1010-40)

Mineralno ulje, 250 ml (B1010-40A) - Za upotrebu SAMO sa WalkAway *SI* i WalkAway *plus* instrumentima (i WalkAway instrumentima nadograđenim automatskom funkcijom prekrivanja uljem)

Prompt® inokulacioni sistem (B1026-10D)**

Organizmi za kontrolu kvaliteta (pogledajte odeljak QC u ovom priručniku)

Reagens za peptidazu, 30 ml (B1012-30B) ili 250 ml (B1015-30)

Komplet za sipanje reagensa (B1013-12A)

RENOK rehidrator/inokulator (B1018-14) ili ekvivalentni

Merač zamućenosti

Vrtložna mešalica

Papir za bar kod nalepnice (B1018-129)

WalkAway poklopci posuda (B1018-18)

POSTUPAK

Priprema panela

- Izvadite panele koji će biti korišćeni iz skladišta. **Paneli se ne smeju koristiti u prisustvu bilo kojeg od sledećih uslova.**
 - Desinkant nije prisutan ili je slomljen.
 - Bunarčići panela su bezbojni (npr., PHO).
 - Celovitost ambalaže ugrožena (otpečaćena, probušena ili pocepana).
- Isecite kesicu i izvadite panel. Ako je čuvan u frižideru, odmah izvadite panel iz kesice sa folijom. Sačekajte da se paneli uravnoteže na sobnoj temperaturi pre obavljanja rehidracije. Paneli mogu biti složeni sa čistim poklopcem posude na vrhu. Sve otvorene panele treba koristiti u toku istog dana ili baciti.

Poz ID tip 3

Supstrati za identifikaciju	Skr.	Supstrati za identifikaciju	Skr.
Crystal ljubičasta	CV	Urea	URE
Skrining na mikrokoke	MS	Manitol	MAN
Nitrat	NIT	Laktoza	LAC
Novobiocin	NOV	Trehaloza	TRE
PNP-β-D-glukuronid	PGR	Manoza	MNS
Indoksil fosfataza	IDX	Natrijum hlorid 6,5%	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbitol	SOR
Optohin	OPT	Arabinoza	ARA
Fosfataza	PHO	Riboza	RBS
40% žuč eskulin	BE	Inulin	INU
L-pirolidonil-β-naftilamid	PYR	Rafinoza	RAF
Arginin	ARG	Bacitracin	BAC
PNP-β-D-galaktopiranozid	PGT	Piruvat	PRV

Priprema inokuluma

CLSI preporučuje povremenu proveru gustina inokuluma putem prebrojavanja kolonija. Preporuke za prebrojavanje kolonija potražite u odeljku 10.3.1.3 CLSI dokumenta M7-A7. Očekivani rezultati za *E. coli* ATCC 25922 trebalo bi da su veoma bliski 5×10^5 CFU/ml za konačne test koncentracije.⁹ Korisnik treba da obrati posebnu pažnju na pripremu inokuluma, posebno ručnim metodama koje zavise od tehnike, kao što su Prompt sistem ili inokulum pripremljen bez pomoći fotometrijskog uređaja.

Napomena: tehnike faze zapisivanja i stacionarne faze nisu podržane sa MicroScan proizvodima.

1. Standardna tehnika zamućenja - primarni metod inokuluma

Standardna tehnika zamućenja se preporučuje za direktnu inokulaciju svih aerobnih gram pozitivnih koka.

- Pomoću sterilnog štapića aplikatora, petlje ili štapića za uzimanje brisa, dodirnite površinu 4–5 velikih ili 5–10 malih morfološki sličnih, dobro izolovanih kolonija od 18–24 sata neinhibirajuće ploče sa agarom.
- Emulgovati u 3 ml vode za inokulum (autoklavirana dejonizovana voda). Konačna zamućenost treba da bude ekvivalentna onoj Mekfarlandovog standarda zamućenosti 0,5. Ekvivalentna zamućenost može se postići upotrebom MicroScan merača zamućenosti sa opsegom od $0,08 \pm 0,02$. Čvrsto zatvorite.

**3M, St. Paul, MN USA

- C. Izmešajte suspenziju u vrtložnoj mešalici 2–3 sekunde.
- D. Pipetom dodajte 0,1 ml (100 µl) standardizovane suspenzije u 25 ml vode za inokulum sa sredstvom PLURONIC. Čvrsto zatvorite. Okrenite 8–10 puta radi mešanja.

2. Prompt sistem

Prompt sistem može da se koristi za gram pozitivne koke koje rastu mnogo brže. Pogledajte dokument „Prompt Inoculation Procedural Manual“ (Proceduralno uputstvo za inokulaciju pomoću sistema Prompt) radi pravilne upotrebe Prompt sistema.

Napomena: koristite pažljivo. Može doći do nedovoljne inokulacije kod organizama koji ne ispunjavaju zahtev za veličinu. Nedovoljna inokulacija može prouzrokovati netačne rezultate testiranja identifikacije.

Rehidratacija/inokulacija panela

Rehidratacija i inokulacija se sprovode pomoću RENOK sistema sa Inoculators-D (B1013-4). Pogledajte RENOK Operator's Manual (RENOK uputstvo za operatera) radi upotrebe. Ako se koristi alternativni sistem, izvršite rehidrataciju sa 115 + 10 µl vode za inokulum (PLURONIC). Potrebno je postići konačnu koncentraciju u bunarčiću od 3–7 X 10⁵ CFU/ml.

Da bi se osigurala održivost i čistoća testiranog organizma, treba pripremiti čistu ploču nanošenjem inokuluma na odgovarajuću ploču agara i inkubiranjem u odgovarajućim uslovima. Ako su na čistoj ploči prisutna dva ili više tipova kolonija, ponovo izolujte kolonije i ponovo ih testirajte.

Biohemijska prekrivanja

1. Koristeći kapalicu, prekriti ARG i URE bunarčiće sa najmanje 3 kapi mineralnog ulja. (Ovi bunarčići su naglašeni na panelu.)
2. Mediji u bunarčićima moraju biti potpuno prekriveni mineralnim uljem, ali se ulje ne sme prelivati van bunarčića.

Napomena: WalkAway *SI* instrumenti i WalkAway *plus* (i WalkAway instrumenti nadograđeni automatskom funkcijom prekrivanja uljem) automatski dodaju ulje u odgovarajuće bunarčiće.

Inkubacija

1. Paneli se mogu inkubirati u WalkAway sistemu ili inkubirati van sistema putem sledećih koraka:
 - A. Da bi se obezbedila ravnomerna raspodela toplote tokom inkubacije, složite panele u grupe od 3–5.
 - B. Stavite čist nosač za pokrivanje na svaku grupu panela da biste sprečili isparavanje. Nosači za pokrivanje se mogu ponovo koristiti. Nemojte dekontaminirati nosače za pokrivanje alkoholom. Mogu se čistiti sapunicom i vodom. Dobro isperite i pustite da se osuši na vazduhu.
 - C. Inkubirajte panele najmanje 16–20 sati na 35°C u ne-CO₂ inkubatoru.

Čitanje panela

Paneli se mogu čitati ručno pomoću MicroScan prikazivača mikrodilucije, a rezultati se mogu beležiti na ručnim radnim listovima panela (pogledajte odeljak „Materijali koji su potrebni ali nisu obezbeđeni“ u ovom uputstvu za postupak) ili na MicroScan instrumentima (touchSCAN-SR, autoSCAN-4 i WalkAway sistemi). U odgovarajućem uputstvu za operatera potražite informacije o čitanju panela pomoću MicroScan instrumenata.

1. Posle 16–20 sati inkubacije, izvadite panele iz inkubatora.
2. Prebrišite dno panela krpom koja ne ostavlja dlačice da biste uklonili bilo kakvu kondenzaciju ili ostatke koji mogu biti prisutni.
3. Pročitajte panele samo ako je kontrolni bunarčić bistar i ako je bunarčić za kontrolu rasta zamućen. Zamućenost može imati oblik bele izmaglice u celom bunarčiću, belog dugmeta u centru bunarčića ili fino granulisanog rasta u celom bunarčiću. Neadekvatan rast je definisan kao mala belina u bunarčiću ili je bujon bistar.
4. Ako se rezultati čitaju ručno, zabeležite rezultate na odgovarajućem radnom listu.
5. Čitanje supstrata za identifikaciju
 - A. Pročitajte sve supstrate za identifikaciju sa belom pozadinom osim za CV, MS, NOV, OPT, NACL i BAC, koje treba čitati na crnoj (indirektno osvetljenoj) pozadini.
 - B. Rezultati za IDX i PHO se beleže nakon 16–20 sati inkubacije.
 - C. Paneli sa negativnim PGT i manje od 3 pozitivna ugljena hidrata treba ponovo inkubirati dodatna 24 sata pre konačnog čitanja i identifikacije.
 - D. Reagense treba dodavati samo panelima koji imaju 3 ugljena hidrata ili pozitivnu reakciju na PGT u tački od 16 do 20 sati. U tački od 40 do 44 sata, dodajte reagense bez obzira na broj pozitivnih testova.
 - E. Pre dodavanja reagenasa, zabeležite sve pozitivne reakcije.
 - F. Dodajte reagense na sledeći način:
 - a. Dodajte 1 kap 40% kalijum hidroksida (KOH) i 1 kap 5% alfa-naftola u VP bunarčić. Pre čitanja sačekajte najmanje 20 minuta da se VP reakcija razvije.

b. Dodajte po 1 kap 0,8% sulfinske kiseline i 0,5% N,N-dimetil-alfa-naftilamina u NIT bunarčić. Pre čitanja sačekajte najmanje 5 minuta da se NIT reakcija razvije.

c. Dodajte 2 kapi reagensa za peptidazu u PYR bunarčić. Pre čitanja sačekajte 2 minuta.

G. Pogledajte odeljak REZULTATI koji pomaže u biohemijskom tumačenju.

REZULTATI

1. Biohemijska tumačenja

Bunarčić	Reagens	Pozitivno	Negativno
CV			
MS			
NOV			
OPT		Rast	Bez rasta
NACL			
BAC			
NIT	Dodajte 1 kap 0,8% sulfonske kiseline i 1 kap 0,5% N, N-dimetil-alfa-naftilamina. Sačekajte 5 minuta da se reakcija razvije.	Ružičasta do crvena	Bistar (bezbojan) Može biti veoma bledo ružičast
PGR	Bilo koju nijansu žute treba tumačiti kao pozitivan rezultat. Koristite bunarčić sa NOV kao negativnu kontrolu.	Žuta	Bistar (bezbojan)
PHO			
PGT			
IDX		Plava do siva/talog	Bistar (bezbojan) ili beo talog
VP	Dodajte 1 kap 40% KOH i 1 kap 5% alfa naftola. Sačekajte najmanje 20 minuta da se reakcija razvije.	Ružičasta do crvena	Bistar (bezbojan) do smeđ, može biti mutan ili veoma bledo ružičast
BE		Tamno smeđa do crna	Bistar (bezbojan) do svetlo smeđ
PYR	Dodajte 2 kapi reagensa za peptidazu. Sačekajte 2 minuta da se reakcija razvije.	Crveno/narandžasta do crvena	Žuta do narandžasto/crvena
ARG		Ružičasto/narandžasta do ružičasta	Žuta do narandžasta
URE		Ružičasta	Žuta do narandžasta
RAF			
LAC			
TRE			
MNS			
SOR	Svaki nagoveštaj narandžaste treba smatrati negativnim rezultatom.	Žuta	Narandžasta do crvena
ARA			
RBS			
INU			
MAN			
PRV			
HEM		Beta	Alfa ili gama
LOC	Samo za prepoznavanje panela autoSCAN-4 i WalkAway sistema.		

Identifikacija isušanih gram pozitivnih - pojednostavljena kontrola kvaliteta (QC) ID-a ¹					
Organizam za kontrolu kvaliteta (QC)	ATCC broj	Supstrat sa ključnim indikatorom	Očekivani rezultati	Rezultat van specifikacije	Labilni supstrat
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Da

1. Ključni indikatori za kontrolu kvaliteta su obezbeđeni za pojednostavljenu kontrolu kvaliteta (QC) prema CLSI dokumentu M50-A.¹⁰ Pre implementacije pojednostavljenog programa kontrole kvaliteta (QC), u dokumentu M50-A potražite detalje i obratite se regulatornim agencijama i grupama za ispitivanje radi potvrde prihvatanja.

2. Principi reakcija za identifikaciju

Kristalno ljubičasta (CV): rast u prisustvu niskih koncentracija kristalno ljubičaste boje koristi se za razlikovanje streptokoka (pozitivni) od stafilokoka (uglavnom negativni).

Provera mikrokoka (MS): rast u prisustvu niskih koncentracija bacitracina (0,05 µg/ml) koristi se za razlikovanje stafilokoka (pozitivni) od mikrokoka (negativni).

Nitrat (NIT): smanjenje nitrata do nitrita detektuje se formiranjem crvene boje nakon dodavanja 0,8% sulfinske kiseline i 0,5% N,N-dimetil-alfa-naftilamina. Streptokoke su negativne na nitrat dok je većina stafilokoka pozitivna na nitrat.

Novobiocin (NOV): otpornost na niske koncentracije (1,6 µg/ml) novobiocina karakteristična je za neke stafilokoke.

Glikozidaze (PGR, PGT): sposobnost organizma da stvara poseban glikozidaza enzim detektuje se razdvajanjem kompleksa p-nitrofenila i ugljenih hidrata uz oslobađanje p-nitrofenola koji je žute boje.

Indoksil fosfataza (IDX): hidrolizom indoksil fosfata pomoću enzima indoksil fosfataze formira se nerastvorljivo plavo jedinjenje. Većina stafilocoka pozitivnih na koagulaze i DNaze su pozitivne na IDX.

Voges-Proskauer (VP): acetilmetilkarbinol, koji se stvara iz glukoze, reaguje sa 40% kalijum hidroksidom i 5% alfa naftolom da bi formirao crvenu boju.

Optocin (OPT): osetljivost na optocin je karakteristična za *Streptococcus pneumoniae*. Optocin ne inhibira druge streptokoke i stafilokoke.

Fosfataza (PHO): alkalna fosfataza razdvaja p-nitrofenil fosfat na neorganski fosfat i p-nitrofenol koji je žute boje.

Žučni eskulin (BE): organizmi koji mogu da rastu u 40% žuči i hidrolizovani eskulin detektuju se stvaranjem crnog taloga koji nastaje reakcijom hidrolitičkog proizvoda eskuletina sa feri-citratom. Streptokoke grupe D, neke viridans streptokoke i neke stafilokoke su pozitivne na BE.

Pirolidonil-β-naftilamid (PYR): organizmi koji proizvode pirolidonazu dele L-pirolidonil-β-naftilamid na L-pirolidon i β-naftilamin koji se kombinuje sa reagensom za peptidazu (p-dimetil-aminocinamaldehyd) i proizvodi crvenu boju.

Arginin (ARG): dehidrolizacija arginina dovodi do alkalizacije medijuma koja se detektuje promenom iz žute u crvenu boju u fenol crvenom indikatoru.

Urea (URE): enzim ureaza razdvaja ureu i formira amonijak. Rezultujuće povećanje pH vrednosti se detektuje fenol crvenim indikatorom.

Ugljeni hidrati (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): fermentacija određenog ugljenog hidrata dovodi do formiranja kiseline. Naknadni pad pH vrednosti je detektovan promenom boje fenol crvenog indikatora koji postaje žut.

6,5% NaCl (NACL): tolerancija na 6,5% natrijum hlorid pokazana je rastom. Tolerancija na so se koristi za razlikovanje enterokoka od neenterokoka.

Bacitracin (BAC): osetljivost na niske koncentracije bacitracina označena je nedostatkom rasta i karakteristična je za *Streptococcus pyogenes*.

Piruvat (PRV): upotreba rezultata za piruvat u formiranju kiseline. Rezultujuće smanjenje pH vrednosti se detektuje promenom boje fenol crvenog indikatora u žutu.

Hemoliza (HEM): streptolizin S i O koje proizvode streptokoke dovode do potpunog ili delimičnog liziranja eritrocita u agaru koji sadrži ovčiju krv.

3. Identifikacija organizma

MicroScan Biotype Lookup Program za isušene gram pozitivne mikroorganizme se koristi za identifikaciju nepoznatih test organizama. Program je generisan iz baze podataka kompanije MicroScan. Lookup Program za gram pozitivne organizme obezbeđuje računarsku analizu 27 testova za *Streptococcaceae* i 18 testova za *Micrococcaceae*. Ovi testovi su prevedeni na broj biotipa sa 9 ili 6 cifara. Metod beleženja rezultata potražite u programu. Program obezbeđuje identifikaciju organizama i relativne verovatnoće. Sve verovatnoće su obezbeđene redosledom najveće verovatnoće do kumulativne ukupne verovatnoće od 99,9%. Program je podeljen u 2 sekcije: *Micrococcaceae* i *Streptococcaceae*.

Ako se pojavi biotip čiji su rezultati „Very Rare Biotype“ (Veoma redak biotip), pogledajte LabPro softver (Utilities (Uslužni programi)>System (Sistem)>Biotype Lookup (Biotype Lookup)) ili uslugu Biotype Lookup na veb-sajtu kompanije Beckman Coulter ili se obratite lokalnom distributeru.

OGRANIČENJA POSTUPKA

1. CLSI document M7-A7 preporučuje dopunu Mueller Hinton bujona liziranom krvi konja pri testiranju zahtevnih streptokoka. Postupak za MicroScan isušeni gram pozitivni panel razlikuje se od ove preporuke. Ako je rast u bunarčiću za rast neadekvatan, biohemijski rezultati nisu važeći i trebalo bi koristiti alternativni metod.
2. Anaerobne bakterije - Poz ID panel nije prikladan za testiranje anaerobnih gram pozitivnih koka.
3. Dodatni testovi mogu biti neophodni za određivanje konačne identifikacije kada se dobije identifikacija male verovatnoće (<85%) pogledajte MicroScan Biotype Lookup Program za aerobne gram pozitivne organizme ili dokument „Microbiology Manual“ (Priručnik za mikrobiologiju).
4. Tumačenje rezultata testa treba da obavlja obučeno kliničko osoblje koje treba da koristi procenu, znanje i dodatne potvrđne testove kada je to potrebno, pre prihvatanja identifikacije organizma.
5. Brojeve biotipa ne treba koristiti za identifikaciju fenotipa sojeva izolovanih iz različitih uzoraka istog pacijenta.
6. *E. faecium* otporni na vankomicin mogu da se razlikuju od *E. gallinarum* proverom pokretljivosti i proizvodnje pigmenta. Više informacija potražite u tabeli sa dodatnim testovima u dokumentu „Microbiology Manual“ (Priručnik za mikrobiologiju).

OČEKIVANE VREDNOSTI

Očekivane vrednosti sa biohemijskim supstratima pogledajte na dijagramu „Percent Chart“ (Procentualni dijagram) koji se nalazi u dokumentu „Microbiology Manual“ (Priručnik za mikrobiologiju).

KONTROLA KVALITETA

Prihvatljivost medija za identifikaciju treba proveriti testiranjem organizama sa poznatim reakcijama. Rezultati za kontrolne organizme koje preporučuje American Type Culture Collection (ATCC) su navedeni u sledećoj tabeli.*

Tabela za kontrolu kvaliteta supstrata za identifikaciju isušenih gram poz

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	Nije primenljivo	Nije primenljivo
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	Nije primenljivo
NOV ²	-	Nije primenljivo	-	Nije primenljivo
PGR ²	-	-	-	Nije primenljivo
IDX	+	Nije primenljivo	Nije primenljivo	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	Nije primenljivo
PHO	+	Nije primenljivo	-	Nije primenljivo
BE	-	+	+	Nije primenljivo
PYR	Nije primenljivo	+	-	Nije primenljivo
ARG	+	+	-	Nije primenljivo
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	Nije primenljivo
MAN	+	+	+	-
LAC	+	Nije primenljivo	+	-
TRE	Nije primenljivo	+	+	-
MNS	Nije primenljivo	+	+	-
NACL	Nije primenljivo	+	-	Nije primenljivo
SOR	Nije primenljivo	+	-	Nije primenljivo
ARA ²	Nije primenljivo	-	-	Nije primenljivo
RBS	Nije primenljivo	+	-	Nije primenljivo
INU	Nije primenljivo	-	+	Nije primenljivo
RAF	Nije primenljivo	-	+	Nije primenljivo
BAC ²	Nije primenljivo	+	+	Nije primenljivo
PRV	Nije primenljivo	+	-	Nije primenljivo

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. U Tabeli sa dodatnim testovima pogledajte dodatne pozitivne ili negativne reakcije potrebne za svaku biohemikaliju.

3. Može biti potrebno 24 sata inkubacije.

N/A = Nije primenljivo

NAPOMENA: organizmi za kontrolu kvaliteta su izabrani tako da daju pozitivne/negativne reakcije za sve supstrate za identifikaciju. Kao rezultat ovoga, identifikacije organizama se mogu razlikovati od onih navedenih u dijagramu kontrole kvaliteta (QC). Prihvatljivost performansi proizvoda treba da se odredi upoređivanjem rezultata testiranja, a ne identifikacijom.

Dodatna tabela za testiranje

Organizam	Supstrat	Očekivani rezultati
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xyloso</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

Identifikacija

Zahtevi u odnosu na izvođenje MicroScan isušenih gram pozitivnih panela tipa 3 uspostavljeni su korišćenjem isušenog gram pozitivnog panela tipa 2 u multicentričnoj studiji. Klinički izolati i sojevi testirani su na isušenom poz tip 3 panelu i konvencionalnim metodologijama sa epruvetama da bi se prikazao tip bakterijske populacije koja se očekuje u rutinskoj kliničkoj laboratoriji. U dokumentu „MicroScan System Microbiology Information Manual“ (Priručnik sa mikrobiološkim informacijama za MicroScan sistem) u odeljku 4: „Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria“ (Isušeni konvencionalni poz paneli: gram pozitivne aerobne bakterije) potražite potpunu listu organizama koji se nalaze u bazi podataka.

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA.

Rezultati isušenog poz ID tip 3 panela za *Micrococcaceae* bili su u skladu i sa nivoom vrste i sa nivoom grupe sa 97,5% (157/161) izolata. Samo za 5,6% (9/161) izolata bili su neophodni dodatni testovi da bi se potvrdila identifikacija na nivou vrste ili grupe sa malom verovatnoćom.

Rezultati isušenog poz ID tip 3 panela za *Streptococcaceae* bili su u skladu sa nivoom vrste sa 91,3% (230/252) i bili su u skladu sa nivoom vrste sa 92,1% (232/252). Samo kod 14,3% (36/252) izolata bili su potrebni dodatni testovi za potvrdu male verovatnoće identifikacije vrste i kod 4,4% (11/252) za potvrdu male verovatnoće identifikacije nivoa grupe.

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
	In Vitro dijagnostičko medicinsko sredstvo	Označava medicinski uređaj koji je namenjen za korišćenje kao in vitro 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

Ključ za simbole

Simbol	Naziv simbola	Opis standarda	Standard
	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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Procedurehandleiding grampositief ID 3)

REF B1017-221

BEOOGD GEBRUIK

Voor gebruik met MicroScan gedroogd grampositief ID type 3-panels. MicroScan gedroogd grampositief ID type 3-panels zijn ontwikkeld om te helpen bij het bepalen van de identificatie van het soortniveau van snel groeiende aerobe en facultatief grampositieve kokken, sommige moeilijk groeiende aerobe grampositieve kokken en *Listeria monocytogenes*. Raadpleeg het hoofdstuk Procedurebeperkingen voor gebruik met moeilijk groeiende streptokokken.

OVERZICHT EN PRINCIPE

Aangepaste conventionele en chromogene tests zijn gebruikt voor de identificatie van *micrococcaceae*, *streptococcaceae* en *listeria monocytogenes*. Dit werd gedaan op basis van veranderende pH-waarden, het gebruik van substraten en detectie van groei in de aanwezigheid van antimicrobiële stoffen na 16-44 uur incubatie bij 35 °C.^{1,2,3,4,5,6,7}

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Alleen voor diagnostisch gebruik *in vitro*.
2. Maak tijdens alle procedures 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.
3. Dit materiaal bevat ziekteverwekkers en moet worden weggegooid als biogevaarlijk afval.
4. De resultaten van deze test moeten altijd worden geïnterpreteerd in combinatie met zowel de medische voorgeschiedenis en de klinische presentatie van de patiënt, als andere bevindingen.
5. Groei- en OPT-well bevatten 0,005% hemine runderkristallijn.

OPSLAG

Gedroogde grampositieve panels moeten worden opgeslagen op 2-25 °C.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op techdocs.beckmancoulter.com

BEWIJS VAN BEDERF

Langdurige blootstelling aan andere bewaaromstandigheden dan die welke worden aanbevolen, kan tot hydrolyse van identificerende stoffen leiden. Gebruik het product niet nadat de houdbaarheidsdatum is verstreken. Neem voor hulp contact op met uw vertegenwoordiger of distributeur van Beckman Coulter.

VERZAMELEN EN PREPAREREN VAN SPECIMEN

Toepasselijke specimens moeten worden afgenomen, getransporteerd en op primaire isolatiemedia geplaatst volgens procedures die worden aangeraden in de *Manual of Clinical Microbiology* (Handleiding klinische microbiologie).⁸

GELEVERDE MATERIALEN

Positief ID type 3 (B1017-221)

Procedurehandleiding

BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

Troebelheidsstandaard van 0,5 McFarland

0,5% N,N-dimethylalfanafthylamine, 30 mL (B1010-45A) of 250 mL (B1015-45)

0,8% zwavelzuur, 30 mL (B1010-44A) of 250 mL (B1015-44)

Pipet van 100 µL met steriele wegwerppunten

5% alfanafthol, 30 mL (B1010-42A)

40% kaliumhydroxide, 30 mL (B1010-43A) of 250 mL (B1015-43)

Afdekrays (B1010-56B)

Algemene laboratoriumapparatuur

Inoculator-D-set (B1013-4)

Inoculatiewater, 3 mL (B1015-2)

Inoculatiewater met PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Microdilutieweer

Minerale olie, 60 mL (B1010-40)

Minerale olie, 250 mL (B1010-40A) – alleen voor gebruik met WalkAway *SI*- en WalkAway *plus*-instrumenten (en de WalkAway-instrumenten met een upgrade voor automatische olieoverlayfunctie)

Prompt®-inoculatiesysteem (B1026-10D)**

Kwaliteitscontroleorganismen (raadpleeg gedeelte Kwaliteitscontrole van deze handleiding)

Peptidasereagens, 30 mL (B1012-30B) of 250 mL (B1015-30)

Reagensdruppelkit (B1013-12A)

RENOK-rehydrator/inoculator (B1018-14) of een vergelijkbaar hulpmiddel

Troebelheidsmeter

Vortexmixer

Barcodelabelpapier (B1018-129)

WalkAway-traydeksels (B1018-18)

PROCEDURE

Panelvoorbereiding

1. Haal de benodigde panelen uit de opslag. **Panelen mogen niet worden gebruikt in een van de volgende situaties.**
 - A. Er is geen dehydratiemiddel of de verpakking van het middel is gescheurd.
 - B. De panelen zijn verkleurd (bijv. PHO).
 - C. De verpakking is beschadigd (niet dicht, geperforeerd of gescheurd).
2. Snijd de verpakking open en haal de panelen eruit. Haal de panelen onmiddellijk uit de folieverpakking als deze in de koelkast is bewaard. Laat de panelen voorafgaand aan rehydratie acclimatiseren tot kamertemperatuur. Panelen mogen worden gestapeld als er een schone afdektray bovenop wordt gelegd. Alle geopende panelen moeten op dezelfde dag worden gebruikt en anders worden weggegooid.

Positief ID type 3

Identificerende substraten	Afk.	Identificerende substraten	Afk.
Kristal violet	CV	Ureum	URE
Microkokkenscherming	MS	Mannitol	MAN
Nitraat	NIT	Lactose	LAC
Novobiocine	NOV	Trehalose	TRE
PNP-β-D-glucuronide	PGR	Mannose	MNS
Indoxylfosfatase	IDX	Natriumchloride 6,5%	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbitol	SOR
Optochine	OPT	Arabinose	ARA
Fosfatase	PHO	Ribose	RBS
40% galsculine	BE	Inuline	INU
L-pyrrolidonyl-β-naftylamide	PYR	Raffinose	RAF
Arginine	ARG	Bacitracine	BAC
PNP-β-D-galactopyranoside	PGT	Pyruvaat	PRV

Vorbereiding van het inoculum

CLSI raadt u aan om de dichtheidswaarden van het inoculum regelmatig te controleren door het aantal kolonies te tellen. Raadpleeg rubriek 10.3.1.3 in het CLSI-document M7-A7 voor aanbevelingen met betrekking tot het tellen van kolonies. De verwachte resultaten voor *E. coli* ATCC 25922 moeten in de buurt komen van 5×10^5 CFU/mL bij de laatste testconcentraties.⁹ De gebruiker moet uiterst zorgvuldig te werk gaan bij het prepareren van het inoculum. Dit geldt met name voor handmatige methoden die techniekafhankelijk zijn, zoals het Prompt-systeem, of bij het voorbereiden van een inoculum zonder fotometrieapparaat.

Opmerking: logaritmische- en stationairefasetechnieken worden niet ondersteund door MicroScan-producten.

1. **Standaard troebelheidstechniek – primaire inoculatiemethode**

De troebelheidstandaardtechniek wordt aanbevolen voor directe inoculatie van alle aerobe grampositieve kokken.

*PLURONIC® oppervlakteactieve stoffen, een gedeponeerd handelsmerk van BASF Corporation, Parsippany, NJ, VS

**3M, St. Paul, MN, VS

- A. Raak met behulp van een steriel applicatorstokje, applicatorlus of wattenstaafje het oppervlak aan van 4-5 grote of 5-10 kleine morfologisch gelijkaardige, goed geïsoleerde kolonies op een niet-remmende agarplaat na 18-24 uur incubatie.
- B. Emulgeer de suspensie in 3 mL inoculatiewater (geautoclaveerd gedeïoniseerd water). De uiteindelijke troebelheid moet gelijk zijn aan een troebelheidsstandaard van 0,5 McFarland. U kunt een gelijkwaardige troebelheid bereiken door gebruik te maken van een MicroScan-troebelheidsmeter met een bereik van $0,08 \pm 0,02$. Draai de dop stevig vast.
- C. Plaats de suspensie gedurende 2-3 seconden in de vortexmixer.
- D. Pipetteer 0,1 mL (100 μ L) van de gestandaardiseerde suspensie in 25 mL inoculatiewater met PLURONIC. Draai de dop stevig vast. Meng de suspensie door deze 8-10 keer om te keren.

2. Prompt-systeem

Het Prompt-systeem kan worden gebruikt voor de sneller groeiende grampositieve kokken. Raadpleeg de Prompt Inoculation Procedural Manual (Prompt-inoculatieprocedurehandleiding) voor meer informatie over het juiste gebruik van het Prompt-systeem.

Opmerking: voorzichtig gebruiken. Onder-inoculatie kan optreden bij organismen die niet voldoen aan de vereiste grootte. Onder-inoculatie kan leiden tot onjuiste testresultaten van identificatie.

Panelrehydratie/-inoculatie

Rehydratie en inoculatie worden uitgevoerd met behulp van het RENOK-systeem met inoculators-D (B1013-4). Raadpleeg de RENOK Operator's Manual for use (RENOK-bedieningshandleiding voor gebruik). Rehydrateer met $115 + 10 \mu$ L inoculatiewater (PLURONIC) als u een ander systeem gebruikt. Uiteindelijk moet er een wellconcentratie van $3-7 \times 10^5$ CFU/mL worden bereikt.

Prepareer een zuiverheidsplaat om de levensvatbaarheid en de zuiverheid van het organisme te testen door het inoculum op een geschikte agarplaat uit te strijken en dit onder de juiste omstandigheden te incuberen. Isoleer de kolonies opnieuw en voer een nieuwe test uit als er twee of meer soorten kolonies aanwezig zijn op de zuiverheidsplaat.

Biochemische overlays

1. Gebruik een druppelflesje om de ARG- en URE-wells te bedekken met minstens 3 druppels minerale olie. (Deze wells zijn onderstreept op de panels.)
2. De media in de wells moeten geheel worden bedekt met minerale olie, maar de olie mag niet overlopen.

Opmerking: WalkAway *SI*- en WalkAway *plus*-instrumenten (en WalkAway-instrumenten met een upgrade voor de automatische olieoverlayfunctie) voegen automatisch olie toe aan de juiste wells.

Incubatie

1. Panels kunnen in een WalkAway-systeem worden geïncubeerd, maar kunnen ook handmatig worden geïncubeerd aan de hand van de volgende stappen:
 - A. Stapel de panels in groepen van 3-5 om te zorgen voor een gelijke verspreiding van de warmte tijdens de incubatie.
 - B. Plaats een schone afdektray op iedere groep panels om verdamping te voorkomen. Afdektrays mogen opnieuw worden gebruikt. Ontsmet de afdektrays niet met alcohol. De trays mogen wel met water en zeep worden schoongemaakt. Spoel goed af en laat aan de lucht drogen.
 - C. Incubeer de panels gedurende 16-20 uur bij 35 °C in een incubator zonder CO₂.

De panels aflezen

Panels kunnen handmatig worden afgelezen met behulp van de MicroScan-microdilutieweviewer en de resultaten kunnen worden vastgelegd in een Manual Panel Worksheet (handmatig panelwerkblad) (raadpleeg het hoofdstuk Materialen vereist maar niet meegeleverd van deze procedurehandleiding) of op MicroScan-instrumenten (touchSCAN-SR-, autoSCAN-4-, en WalkAway-systemen). Raadpleeg de betreffende gebruikershandleiding voor informatie over het aflezen van panels met behulp van MicroScan-instrumenten.

1. Haal de panels na 16-20 uur incubatie uit de incubator.
2. Veeg de onderkant van de panels schoon met een pluisvrije doek om eventuele condensatie of vuil te verwijderen.
3. Lees de panels enkel af indien de controlewell helder is en de groeicontrolwell troebel. De troebelheid kan een witte waas zijn in de gehele well, een witte stip in het midden van de well of fijnkorrelige groei verspreid over de well. Onvoldoende groei wordt aangeduid door een lichte witheid in de well of een helder bouillon.
4. Noteer de resultaten op het juiste werkblad als deze handmatig worden afgelezen.
5. Identificerende stoffen aflezen
 - A. Lees alle identificerende stoffen af op een witte achtergrond behalve CV, MS, NOV, OPT, NACL en BAC, die moeten worden afgelezen tegen een zwarte achtergrond (met indirecte verlichting).
 - B. IDX- en PHO-resultaten worden geregistreerd na een incubatie van 16-20 uur.

- C. Panels met negatieve PGT en minder dan 3 positieve koolhydraten moeten 24 uur extra opnieuw worden geïncubeerd voordat een definitieve aflezing en identificatie plaatsvinden.
- D. Enkel aan panels met 3 koolhydraten of positieve PGT-reactie mogen reagentia worden toegevoegd na 16-20 uur. Na 40-44 uur voegt u reagentia toe ongeacht het aantal positieve tests.
- E. Voordat u reagentia toevoegt, registreert u alle positieve reacties.
- F. Voeg reagentia als volgt toe:
- Voeg 1 druppel 40% kaliumhydroxide (KOH) en 1 druppel 5% alfanafthol toe aan de VP-well. Wacht minimaal 20 minuten om de VP te laten reageren voordat u afleest.
 - Voeg 1 druppel elk van 0,8% sulfanilzuur en 0,5% N,N-dimethylalfanafthylamine toe aan de NIT-well. Wacht minimaal 5 minuten om de NIT te laten reageren voordat u afleest.
 - Voeg 2 druppels peptidasereagents toe aan de PYR-well. Wacht 2 minuten voordat u afleest.
- G. Raadpleeg het gedeelte RESULTATEN voor hulp bij de biochemische interpretatie.

RESULTATEN

1. Biochemische interpretaties

Well	Reagens	Positief	Negatief
CV			
MS			
NOV			
OPT		Groei	Geen groei
NACL			
BAC			
NIT	Voeg 1 druppel 0,8% sulfanilzuur en 1 druppel 0,5% N,N-dimethylalfanafthylamine toe. Wacht 5 minuten om het te laten reageren.	Roze tot rood	Helder (kleurloos) kan zeer lichtroze zijn
PGR	Een gele kleur moet worden geïnterpreteerd als positief. Gebruik de NOV-well als een negatieve controle.	Geel	Helder (kleurloos)
PHO			
PGT			
IDX		Blauw tot grijs/precipitaat	Helder (kleurloos) of wit precipitaat
VP	Voeg 1 druppel 40% KOH en 1 druppel 5% alfanafthol toe. Wacht minimaal 20 minuten om het te laten reageren.	Roze tot rood	Helder (kleurloos) tot bruin, kan troebel of zeer lichtroze zijn
BE		Donkerbruin tot zwart	Helder (kleurloos) tot lichtbruin
PYR	Voeg 2 druppels peptidasereagents toe. Wacht 2 minuten om het te laten reageren.	Rood/oranje tot rood	Geel tot oranje/rood
ARG		Roze/oranje tot roze	Geel tot oranje
URE		Roze	Geel tot oranje
RAF			
LAC			
TRE			
MNS			
SOR	Sporen van oranje moeten worden beschouwd als negatief.	Geel	Oranje tot rood
ARA			
RBS			
INU			
MAN			
PRV			
HEM		Bèta	Alfa of gamma
LOC	Alleen voor panelherkenning door autoSCAN-4- en WalkAway-systemen.		

Gedroogde grampositieve identificatie – Gestroomlijnde kwaliteitscontrole (QC)-ID ¹					
Organisme voor kwaliteitscontrole (QC)	ATCC-nummer	Belangrijk indicatorsubstraat	Verwacht resultaat	Resultaat dat afwijkt van specificatie	Labiël substraat
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Ja

1. In de gestroomlijnde kwaliteitscontrole (QC) staan de belangrijkste indicatoren voor kwaliteitscontrole per CLSI-document M50-A vermeld.¹⁰ Raadpleeg voordat u het gestroomlijnde kwaliteitscontroleprogramma toepast het M50-A-document voor meer informatie en vraag om toestemming bij toepasselijk regelgevende instanties en controlegroepen.

2. Principes van identificatiereacties

Kristal violet (CV): groei in aanwezigheid van lage concentraties kristal violet wordt gebruikt om streptokokken (positief) te onderscheiden van stafylokokken (voornamelijk negatief).

Microkokkenscreening (MS): groei in aanwezigheid van lage concentraties bacitracine (0,05 µg/mL) wordt gebruikt om stafylokokken (positief) te onderscheiden van microkokken (negatief).

Nitraat (NIT): afbraak van nitraat tot nitriet wordt gedetecteerd door de vorming van een rode kleur na de toevoeging van 0,8% sulfanilzuur en 0,5% N,N-dimethyl- α -naftylamine. Streptokokken zijn nitraatnegatief, terwijl de meeste stafylokokken nitraatpositief zijn.

Novobiocine (NOV): resistentie tegen lage concentraties (1,6 $\mu\text{g/mL}$) novobiocine is kenmerkend voor sommige stafylokokken.

Glycosidasen (PGR, PGT): het vermogen van een organisme om een specifiek glycosidase-enzym te produceren wordt gedetecteerd door het splitsen van het p-nitrofenyl-koolhydraatcomplex, waarbij geelkleurig p-nitrofenol vrijkomt.

Indoxylfosfatase (IDX): hydrolyse van indoxylfosfaat door het enzym indoxylfosfaat resulteert in een onoplosbare, blauwe verbinding. De meeste coagulase- en DNase-positieve stafylokokken zijn IDX-positief.

Voges-Proskauer (VP): acetylmethylcarbinol, geproduceerd op grond van glucose, reageert met 40% kaliumhydroxide en 5% alfanafthol, waarbij een rode kleur wordt gevormd.

Optochine (OPT): gevoeligheid voor optochine is kenmerkend voor *Streptococcus pneumoniae*. Andere streptokokken en stafylokokken worden niet geremd door optochine.

Fosfatase (PHO): alkalische fosfatase splitst p-nitrofenylfosfaat in anorganisch fosfaat en p-nitrofenol, dat geel van kleur is.

Galesculine (BE): organismen die kunnen groeien in 40% gal en die esculine kunnen hydrolyseren, worden gedetecteerd door de productie van een zwart precipitaat dat ontstaat doordat het hydrolytische product esculetine reageert met ferricitraat. Groep D-streptokokken, sommige viridans-streptokokken en sommige stafylokokken zijn BE-positief.

Pyrrolidonyl- β -naftylamide (PYR): organismen die pyrrolidonase produceren, splitsen L-pyrrolidonyl- β -naftylamide in L-pyrrolidone en β -naftylamide, hetgeen in combinatie met peptidasereagens (p-dimethyl-aminocinnamaldehyde) een rode kleur produceert.

Arginine (ARG): dehydrolysatie van arginine resulteert in alkalisering van het medium, wat wordt gedetecteerd door een kleurverandering van geel naar rood in de fenolrode indicator.

Ureum (URE): de enzym-urease laat ureum splijten waardoor er ammoniak ontstaat. De resulterende pH-toename wordt gedetecteerd door de fenolrode indicator.

Koolhydraten (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): de fermentatie van een specifiek koolhydraat leidt tot zuurvorming. De daarop volgende daling van de pH wordt gedetecteerd door de fenolrode indicator, die geel wordt.

6,5% NaCl (NACL): Tolerantie voor 6,5% natriumchloride wordt aangetoond door groei. Zouttolerantie wordt gebruikt om enterokokken van niet-enterokokken te onderscheiden.

Bacitracine (BAC): gevoeligheid voor lage concentraties bacitracine blijkt uit een gebrekkige groei en is kenmerkend voor *Streptococcus pyogenes*.

Pyruvaat (PRV): gebruik van pyruvaatresultaten bij zuurvorming. De resulterende daling van de pH wordt gedetecteerd door de fenolrode indicator, die geel wordt.

Hemolyse (HEM): streptolysine S en O, die worden geproduceerd door streptokokken, veroorzaken volledige of gedeeltelijke ontbinding van de rode bloedcellen in agar dat schapebloed bevat.

3. Identificatie van organismen

Het MicroScan gedroogde grampositieve Biotype Lookup Program wordt gebruikt voor het identificeren van onbekende testorganismen. Dit programma is ontleend aan de database van MicroScan. Het grampositieve Lookup Program biedt computeranalyses van 27 tests voor *streptococcaceae* en 18 tests voor *micrococcaceae*. Deze tests worden respectievelijk vertaald in een biotypenummer met 9 of 6 cijfers. Raadpleeg het programma voor de methode om resultaten vast te leggen. Het programma bevat een lijst met organismen en bijbehorende waarschijnlijkheden. Alle mogelijkheden zijn in een lijst aflopend gerangschikt met een cumulatief totaal van maximaal 99,9%. Het programma is opgedeeld in twee gedeeltes: *micrococcaceae* en *streptococcaceae*.

Raadpleeg de LabPro-software (Utilities (Hulpprogramma's)>System (Systeem)>Biotype Lookup (Biotype zoeken)), het Biotype Lookup Program op de website van Beckman Coulter of uw vertegenwoordiger of distributeur van Beckman Coulter als er een biotype wordt aangeduid als 'Very Rare Biotype' (Uiterst zeldzaam biotype).

PROCEDUREBEPERKINGEN

1. In het CLSI-document M7-A7 wordt aangeraden het Mueller Hinton-bouillon aan te vullen met gelyseerd paardenbloed bij het testen op moeilijk groeiende streptokokken. De procedure van MicroScan gedroogde grampositieve panels wijkt af van deze aanbeveling. Indien er onvoldoende groei is in de groeiwell, zijn de biochemische resultaten niet geldig en moet een alternatieve methode worden gevolgd.
2. Anaerobe bacteriën – Het positief ID-panel is niet geschikt voor het testen van anaerobe grampositieve kokken.

3. Er zijn mogelijk extra tests nodig om de definitieve identificatie te bepalen als de identificatiewaarschijnlijkheid laag is (<85%) (raadpleeg hiervoor het MicroScan Biotype Lookup Program voor aerobe grampositieve organismen of de Microbiology Manual (microbiologiehandleiding)).
4. 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.
5. Biotypenummers mogen niet worden gebruikt voor de fenotypische identificatie van stammen die zijn geïsoleerd van verschillende specimens van dezelfde patiënt.
6. Weerstand tegen vancomycine *E. faecium* kan worden onderscheiden van *E. gallinarum* door motiliteit en de aanmaak van pigment te controleren. Raadpleeg de aanvullende testtabel van de Microbiology Manual (microbiologiehandleiding) voor meer informatie.

VERWACHTE WAARDEN

Raadpleeg voor verwachte waarden van biochemische substraten de Percent Chart (procentdiagram) in de Microbiology Manual (microbiologiehandleiding).

KWALITEITSCONTROLE

De aanvaardbaarheid van de identificerende media moet worden gecontroleerd door organismen te testen waarvan de reacties bekend zijn. De resultaten voor de aanbevolen controleorganismen van de American Type Culture Collection (ATCC) worden in onderstaande tabel weergegeven.*

Tabel Kwaliteitscontrole van gedroogde grampositieve identificerende stoffen

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	N.v.t.	N.v.t.
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	N.v.t.
NOV ²	-	N.v.t.	-	N.v.t.
PGR ²	-	-	-	N.v.t.
IDX	+	N.v.t.	N.v.t.	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	N.v.t.
PHO	+	N.v.t.	-	N.v.t.
BE	-	+	+	N.v.t.
PYR	N.v.t.	+	-	N.v.t.
ARG	+	+	-	N.v.t.
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	N.v.t.
MAN	+	+	+	-
LAC	+	N.v.t.	+	-
TRE	N.v.t.	+	+	-
MNS	N.v.t.	+	+	-
NACL	N.v.t.	+	-	N.v.t.
SOR	N.v.t.	+	-	N.v.t.
ARA ²	N.v.t.	-	-	N.v.t.
RBS	N.v.t.	+	-	N.v.t.
INU	N.v.t.	-	+	N.v.t.
RAF	N.v.t.	-	+	N.v.t.
BAC ²	N.v.t.	+	+	N.v.t.
PRV	N.v.t.	+	-	N.v.t.

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Zie de tabel met extra tests voor extra positieve of negatieve reacties, zoals vereist voor elk biochemisch resultaat.

3. Kan een incubatie van 24 uur vereisen.

N.v.t. = niet van toepassing

OPMERKING: organismen voor kwaliteitscontrole worden geselecteerd om voor positieve/negatieve reacties bij alle identificatiestoffen te zorgen. Als gevolg hiervan kunnen de identificaties van organismen afwijken van de identificatie die wordt vermeld in het kwaliteitscontrole (QC)-diagram. De aanvaardbaarheid van de productprestaties moet worden bepaald door testresultaten te vergelijken, niet door middel van identificatie.

Tabel met extra tests

*American Type Culture Collection, Manassas, VA VS.

Organisme	Substraat	Verwacht resultaat
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

PRESTATIEKENMERKEN

Identificatie

De prestaties van het MicroScan gedroogd grampositief type 3-panel zijn vastgesteld met het gebruik van het gedroogd grampositief type 2-panel tijdens een onderzoek in meerdere centra. De klinische isolaten en voorraadstammen werden getest op een gedroogd positief ID type 3-panel en er is gebruikgemaakt van conventionele buisjesmethoden. Zo kon een bacteriepopulatie worden bereikt zoals in een normaal klinisch laboratorium kan worden verwacht. Raadpleeg de MicroScan System Microbiology Information Manual (microbiologiehandleiding van MicroScan-systeem) (hoofdstuk 4: Dried Conventional Pos Panels: Gram Positive Aerobic Bacteria (Gedroogd conventioneel positief panels: grampositieve anaerobe bacteriën)) voor een volledige lijst van organismen die zijn opgenomen in de database.

De resultaten van het gedroogd positief ID type 3-panel *micrococcaceae* kwamen met 97,5% (157/161) van de isolaten overeen met het soort- en groepsniveau. Bij slechts 5,6% (9/161) van de isolaten waren aanvullende tests nodig om de identificatie te bevestigen van soorten of groepen met een lage waarschijnlijkheid.

De *Streptococcaceae*-resultaten van de gedroogde positieve panel van ID-type 3 waren voor 91,3% (230/252) in overeenstemming met het soortniveau en ze waren voor 92,1% (232/252) in overeenstemming met het groepsniveau. Bij slechts 14,3% (36/252) van de isolaten waren aanvullende tests nodig om de soortidentificatie te bevestigen en bij 4,4% (11/252) om een groepsidentificatie met een lage waarschijnlijkheid te bevestigen.

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 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
	Temperatuurbeperring	Geeft de temperatuurlimieten aan waaraan een medisch hulpmiddel veilig kan worden blootgesteld.	ISO 15223-1; 5.3.7
	Gebruiksaanwijzingen raadplegen	Geeft aan dat de gebruiker de gebruiksaanwijzingen 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 hulpmiddel etiketten, 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

Gram Positive ID 3 Procedural Manual (Hướng dẫn quy trình định danh sinh vật gram dương loại 3)

REF B1017-221

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Để sử dụng với các panel định danh sinh vật gram dương khô loại 3 trên MicroScan. Các panel định danh sinh vật gram dương khô loại 3 trên MicroScan được thiết kế để sử dụng trong quy trình xác định định danh ở cấp loài của khuẩn cầu gram dương hiếu khí sinh trưởng nhanh và khuẩn cầu gram dương không bắt buộc, một số khuẩn cầu gram dương hiếu khí biệt dưỡng và *Listeria monocytogenes*. Tham khảo phần Giới hạn của quy trình để biết cách sử dụng với streptococci biệt dưỡng.

TÓM TẮT VÀ NGUYÊN TẮC

Các xét nghiệm sinh màu và xét nghiệm thông thường đã sửa đổi được dùng để định danh *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* và *Listeria monocytogenes*. Sinh vật được định danh dựa trên việc nhận biết thay đổi độ pH, sử dụng cơ chất và sự sinh trưởng khi có chất kháng vi sinh vật sau khi ủ 16–44 giờ ở 35°C.^{1,2,3,4,5,6,7}

CẢNH BÁO VÀ THẬN TRỌNG

1. Chỉ dùng để chẩn đoán *in vitro*.
2. 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.
3. Vật liệu này chứa các tác nhân truyền nhiễm và phải được thải bỏ theo đúng quy định về rác thải có nguy cơ sinh học.
4. Phải luôn diễn giải kết quả của xét nghiệm này cùng với bệnh sử của bệnh nhân, biểu hiện lâm sàng và các phát hiện khác.
5. Giếng sinh trưởng và OPT chứa 0,005% tinh thể hemin từ bò.

BẢO QUẢN

Phải bảo quản các Panel định danh sinh vật gram dương khô ở nhiệt độ 2–25°C.

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

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Khi tiếp xúc với các điều kiện bảo quản không được khuyến nghị trong thời gian dài, cơ chất định danh có thể bị thủy phân. Không sử dụng sau ngày hết hạn. Liên hệ với Đại diện hoặc Nhà phân phối của Beckman Coulter để được hỗ trợ thêm.

LẤY MẪU XÉT NGHIỆM VÀ CHUẨN BỊ

Phải thu thập, vận chuyển và đặt các mẫu phù hợp vào môi trường phân lập chính theo các quy trình được khuyến nghị trong *Manual of Clinical Microbiology (Hướng dẫn về vi sinh học lâm sàng)*.⁸

VẬT LIỆU ĐƯỢC CUNG CẤP

Định danh sinh vật gram dương loại 3 (B1017-221)

Hướng dẫn quy trình

VẬT LIỆU CẦN THIẾT KHÔNG ĐƯỢC CUNG CẤP

Chuẩn độ đục McFarland 0,5

N,N-Dimethyl-alpha-naphthylamine 0,5%, 30 mL (B1010-45A) hoặc 250 mL (B1015-45)

Axit sulfanilic 0,8%, 30 mL (B1010-44A) hoặc 250 mL (B1015-44)

Pipet 100 µL có đầu hút vô khuẩn dùng một lần

Alpha naphthol 5%, 30 mL (B1010-42A)

Kali hiđroxit 40%, 30 mL (B1010-43A) hoặc 250 mL (B1015-43)

Khay phủ (B1010-56B)

Dụng cụ phòng xét nghiệm thông thường

Bộ thiết bị cấy-D (B1013-4)

Nước cấy truyền, 3 mL (B1015-2)

Nước cấy truyền có PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

*Chất hoạt động bề mặt PLURONIC®, một nhãn hiệu đã đăng ký của BASF Corporation, Parsippany, NJ USA

- Máy đọc vi pha loãng
- Dầu khoáng, 60 mL (B1010-40)
- Dầu khoáng, 250 mL (B1010-40A) – CHỈ dùng cho các thiết bị WalkAway *SI* và WalkAway *plus* (cũng như các thiết bị WalkAway đã nâng cấp tính năng phủ dầu tự động)
- Hệ thống cấy truyền Prompt® (B1026–10D)**
- Sinh vật kiểm soát chất lượng (Tham khảo phần QC của hướng dẫn này)
- Thuốc thử peptidase, 30 mL (B1012-30B) hoặc 250 mL (B1015-30)
- Bộ ống nhỏ giọt thuốc thử (B1013-12A)
- Dụng cụ thủy hóa lại/cấy truyền RENOK (B1018-14) hoặc tương đương
- Máy đo độ đục
- Máy lắc Vortex
- Giấy nhãn mã vạch (B1018-129)
- Nắp khay WalkAway (B1018-18)

QUY TRÌNH Chuẩn bị Panel

- Lấy panel cần sử dụng ra khỏi nơi bảo quản. **Không sử dụng panel nếu tồn tại bất kỳ điều kiện nào sau đây.**
 - Không có chất hút ẩm hoặc chất hút ẩm đã bị hỏng.
 - Các giếng trong panel bị biến màu (ví dụ: PHO).
 - Bao bì không còn nguyên vẹn (bị hở, thủng hoặc rách).
- Cắt mở túi và lấy panel ra. Nếu bảo quản trong tủ lạnh, hãy lấy panel ngay ra khỏi túi màng kim loại. Để các panel về nhiệt độ phòng trước khi thủy hóa lại. Có thể xếp chồng các panel với điều kiện đặt một khay phủ sạch lên trên. Phải sử dụng tất cả các panel đã mở trong ngày. Thải bỏ nếu không dùng hết.

Định danh sinh vật gram dương loại 3

Cơ chất định danh	Chữ viết tắt	Cơ chất định danh	Chữ viết tắt
Tím tinh thể	CV	Urê	URE
Micrococcus Screen	MS	Mannitol	MAN
Nitrat	NIT	Lactose	LAC
Novobiocin	NOV	Trehalose	TRE
PNP-β-D-Glucuronide	PGR	Mannose	MNS
Indoxyl Phosphatase	IDX	Natri clorua 6,5%	NACL
Voges-Proskauer	VP	Sorbitol	SOR
Optochin	OPT	Arabinose	ARA
Phosphatase	PHO	Ribose	RBS
Bile esculin 40%	BE	Inulin	INU
L-Pyrrolidonyl-β-naphthylamide	PYR	Raffinose	RAF
Arginin	ARG	Bacitracin	BAC
PNP-β-D-Galactopyranoside	PGT	Pyruvate	PRV

Chuẩn bị môi trường cấy truyền

CLSI khuyến nghị kiểm tra định kỳ mật độ của môi trường cấy truyền bằng cách tiến hành các lần đếm khuẩn lạc. Tham khảo tài liệu M7-A7 phần 10.3.1.3 của CLSI để biết số lượng khuẩn lạc theo khuyến nghị. Kết quả dự kiến cho *E. coli* ATCC 25922 phải gần xấp xỉ 5 X 10⁵ CFU/mL đối với các nồng độ xét nghiệm cuối cùng.⁹ Người dùng phải chú ý khi chuẩn bị môi trường cấy truyền, đặc biệt khi sử dụng phương pháp thủ công phụ thuộc vào kỹ thuật, chẳng hạn như Hệ thống Prompt, hoặc khi chuẩn bị môi trường cấy truyền mà không sử dụng thiết bị đo sáng.

Lưu ý: Các sản phẩm MicroScan không hỗ trợ các kỹ thuật ở pha Log và pha Ổn định.

- Kỹ thuật chuẩn độ đục – Phương pháp chuẩn bị môi trường cấy truyền chính**

Nên sử dụng kỹ thuật chuẩn độ đục để cấy truyền trực tiếp tất cả khuẩn cầu gram dương hiếu khí.

 - Dùng que trét, que cấy đầu tròn hoặc bông tăm vô khuẩn chạm vào bề mặt của 4–5 khuẩn lạc lớn hoặc 5–10 khuẩn lạc nhỏ có hình thái tương đồng, được phân lập kỹ trên đĩa thạch không ức chế đã nuôi cấy 18–24 giờ.

**3M, St. Paul, MN USA
 C29873–AB

- B. Nhũ hóa trong 3 mL Nước cấy truyền (nước đã khử ion bằng cách hấp). Độ đục cuối cùng phải tương đương với chuẩn độ đục McFarland 0,5. Có thể đạt được độ đục tương đương bằng cách sử dụng Máy đo độ đục MicroScan có phạm vi $0,08 \pm 0,02$. Đậy kín nắp.
- C. Khuấy huyền phù trong 2–3 giây.
- D. Dùng ống pipet phân phối 0,1 mL (100 μ L) huyền phù đã chuẩn hóa vào 25 mL Nước cấy truyền có PLURONIC. Đóng chặt nắp. Đảo qua lại 8–10 lần để trộn.

2. Hệ thống Prompt

Có thể sử dụng Hệ thống Prompt để khuẩn cầu gram dương sinh trưởng nhanh hơn. Tham khảo Prompt Inoculation procedural manual (Hướng dẫn quy trình Cấy truyền Prompt) để biết cách sử dụng đúng Hệ thống Prompt.

Lưu ý: Thận trọng khi sử dụng. Có thể xảy ra tình trạng cấy truyền không đủ với các sinh vật không đáp ứng được yêu cầu về kích thước. Tình trạng cấy truyền không đủ có thể dẫn đến sai lệch kết quả xét nghiệm định danh.

Thủy hóa lại/cấy truyền panel

Thực hiện quá trình thủy hóa lại và cấy truyền bằng cách sử dụng hệ thống RENOK với inoculators-D (B1013-4). Tham khảo RENOK Operator's Manual (Hướng dẫn vận hành hệ thống RENOK) để biết cách sử dụng. Nếu sử dụng hệ thống thay thế, hãy thủy hóa lại bằng $115 \pm 10 \mu$ L Nước cấy truyền (PLURONIC). Phải đạt được nồng độ cuối cùng của giếng ở mức 3–7 X 10^5 CFU/mL.

Để đảm bảo khả năng sống và độ tinh khiết của sinh vật xét nghiệm, phải chuẩn bị đĩa tinh khiết bằng cách quét môi trường cấy truyền vào đĩa thạch thích hợp và ủ trong các điều kiện thích hợp. Nếu đĩa tinh khiết có hai hoặc nhiều loại khuẩn lạc, phải phân lập lại các khuẩn lạc và xét nghiệm lại.

Phủ chất sinh hóa

1. Dùng lọ nhỏ giọt để phủ các giếng ARG và URE bằng ít nhất 3 giọt dầu khoáng. (Các giếng này được gạch chân trên panel.)
2. Phải phủ kín hoàn toàn môi trường trong các giếng bằng dầu khoáng, nhưng không được đổ tràn dầu khỏi các giếng.

Lưu ý: Các thiết bị WalkAway SI và WalkAway plus (cũng như các thiết bị WalkAway được nâng cấp tính năng phủ dầu tự động) sẽ tự động thêm dầu vào giếng phù hợp.

Ủ

1. Có thể ủ các panel trong Hệ thống WalkAway hoặc ủ ngoài hệ thống theo các bước sau:
 - A. Để đảm bảo phân phối nhiệt đồng đều trong khi ủ, hãy chồng các panel theo các nhóm 3–5 panel.
 - B. Đặt một Khay phủ sạch lên trên từng nhóm panel để tránh bay hơi. Có thể tái sử dụng Khay phủ. Không khử nhiễm Khay phủ bằng cồn. Có thể vệ sinh các khay này bằng xà phòng và nước. Rửa sạch và để khô tự nhiên.
 - C. Ủ các panel trong vòng 16–20 giờ ở 35°C trong buồng ủ không có CO_2 .

Đọc các panel

Có thể đọc các panel theo cách thủ công bằng Máy đọc vi pha loãng MicroScan và ghi các kết quả vào Manual Panel Worksheet (Phiếu ghi kết quả đọc panel thủ công) (xem phần Vật liệu cần thiết nhưng không được cung cấp trong hướng dẫn quy trình này) hoặc trên thiết bị MicroScan (các hệ thống touchSCAN-SR, autoSCAN-4 và WalkAway). Tham khảo hướng dẫn vận hành thích hợp để đọc panel bằng thiết bị MicroScan.

1. Sau khi ủ 16–20 giờ, lấy các panel ra khỏi máy ủ.
2. Lau đáy của panel bằng giấy không xơ để lau sạch nước đọng hoặc bụi có thể xuất hiện.
3. Chỉ đọc các panel nếu giếng kiểm chuẩn trong suốt và giếng kiểm chuẩn sinh trưởng đục. Độ đục có thể ở dạng sương trắng trong toàn giếng, đốm trắng ở giữa giếng hoặc hình thành hạt mịn trong toàn giếng. Canh thang trong suốt hoặc giếng chỉ hơi trắng nghĩa là sinh trưởng không đủ.
4. Nếu đọc kết quả theo cách thủ công, hãy ghi kết quả vào phiếu ghi kết quả xét nghiệm phù hợp.
5. Đọc cơ chất định danh
 - A. Đọc tất cả cơ chất định danh trên một nền trắng trừ CV, MS, NOV, OPT, NACL và BAC (phải đọc trên nền đen được chiếu sáng gián tiếp).
 - B. Ghi kết quả IDX và PHO sau khi ủ 16–20 giờ.
 - C. Phải ủ các panel có PGT âm tính và có ít hơn 3 cacbohydrat dương tính thêm 24 giờ trước khi đọc và định danh cuối cùng.
 - D. Chỉ được thêm thuốc thử vào các panel có 3 cacbohydrat hoặc phản ứng PGT dương tính sau khi ủ 16–20 giờ. Sau khi ủ 40–44 giờ, hãy thêm thuốc thử bất kể số lượng xét nghiệm dương tính.
 - E. Trước khi thêm thuốc thử, hãy ghi lại tất cả các phản ứng dương tính.
 - F. Thêm thuốc thử như sau:

- Thêm 1 giọt Kali hydroxit (KOH) 40% và 1 giọt Alpha-Naphthol 5% vào giếng VP. Đợi ít nhất 20 phút để phản ứng VP phát triển trước khi đọc.
 - Thêm lần lượt 1 giọt Axit sulfanilic 0,8% và N,N-Dimethyl-alpha-naphthylamine 0,5% vào giếng NIT. Đợi ít nhất 5 phút để phản ứng NIT phát triển trước khi đọc.
 - Thêm 2 giọt thuốc thử Peptidase vào giếng PYR. Đợi 2 phút trước khi đọc.
- G. Tham khảo phần KẾT QUẢ để hỗ trợ quá trình diễn giải kết quả sinh hóa.

KẾT QUẢ

1. Diễn giải sinh hóa

Giếng	Thuốc thử	Dương tính	Âm tính
CV MS NOV OPT NACL BAC		Sinh trưởng	Không sinh trưởng
NIT	Thêm 1 giọt Axit sulfanilic 0,8% và 1 giọt N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine 0,5%. Đợi 5 phút để phản ứng tiến triển.	Hồng đến đỏ	Trong suốt (không màu) Có thể hồng rất nhạt
PGR PHO PGT IDX	Mọi sắc vàng phải được diễn giải là dương tính. Sử dụng giếng NOV làm giếng kiểm chuẩn âm tính.	Vàng	Trong suốt (không màu)
VP	Thêm 1 giọt KOH 40% và 1 giọt Alpha naphthol 5%. Đợi ít nhất 20 phút để phản ứng tiến triển.	Xanh lam đến xám/kết tủa	Trong suốt (không màu) hoặc kết tủa trắng
BE		Hồng đến đỏ	Trong suốt (không màu) đến Nâu, Có thể đục hoặc hồng rất nhạt
PYR	Thêm 2 giọt thuốc thử Peptidase. Đợi 2 phút để phản ứng phát triển.	Nâu đậm chuyển sang đen	Trong suốt (không màu) đến Nâu nhạt
ARG		Đỏ/Cam đến Đỏ	Vàng đến Cam/Đỏ
URE		Hồng/Cam đến Hồng	Vàng đến cam
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Mọi sắc cam phải được coi là âm tính.	Hồng	Vàng đến cam
HEM		Vàng	Cam đến đỏ
LOC	Chỉ dành cho nhận dạng panel trên Hệ thống autoSCAN-4 và WalkAway.	Beta	Alpha hoặc Gamma

Định danh sinh vật gram dương khô – QC định danh tinh giản ¹					
Sinh vật QC	Số ATCC	Cơ chất chỉ thị chính	Kết quả mong đợi	Kết quả ngoài thông số kỹ thuật	Cơ chất không bền
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Có

1. Các chỉ thị Kiểm soát chất lượng chính được cung cấp cho chương trình QC tinh giản theo tài liệu M50-A của CLSI.¹⁰ Trước khi triển khai chương trình QC tinh giản, hãy tham khảo tài liệu M50-A để biết thông tin chi tiết và tham vấn các cơ quan chức năng, các nhóm kiểm soát phù hợp để xác nhận sự chấp thuận.

2. Nguyên lý của các phản ứng định danh

Tím tinh thể (CV): Sự sinh trưởng khi có mặt tím tinh thể nồng độ thấp được sử dụng để phân biệt liên cầu khuẩn (dương tính) với tụ cầu khuẩn (hầu hết âm tính).

Sàng lọc đơn cầu khuẩn (MS): Sự sinh trưởng khi có mặt bacitracin nồng độ thấp (0,05 µg/mL) được sử dụng để phân biệt tụ cầu khuẩn (dương tính) với đơn cầu khuẩn (âm tính).

Nitrat (NIT): Sự khử nitrat thành nitrit được phát hiện thông qua sự hình thành màu đỏ sau khi thêm Axit sulfanilic 0,8% và N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine 0,5%. Liên cầu khuẩn âm tính với nitrat trong khi hầu hết tụ cầu khuẩn dương tính với nitrat.

Novobiocin (NOV): Kháng Novobiocin nồng độ thấp (1,6 µg/mL) là đặc tính của một số tụ cầu khuẩn.

Glycosidase (PGR, PGT): Khả năng sản sinh enzym glycosidase cụ thể của sinh vật được phát hiện thông qua sự giải phóng p-nitrophenol có màu vàng của quá trình phân tách phức hợp p-nitrophenyl-carbohydrate.

Indoxyl Phosphatase (IDX): Quá trình thủy phân indoxyl phosphat bằng enzym indoxyl phosphatase tạo ra hợp chất xanh lam không hòa tan. Hầu hết tụ cầu khuẩn dương tính với DNase và coagulase đều dương tính với IDX.

Voges-Proskauer (VP): Acetylmethylcarbinol, được sản sinh từ glucose, phản ứng với Kali hydroxit 40% và Alpha naphthol 5% để tạo nên màu đỏ.

Optochin (OPT): Nhạy optochin là đặc tính của *Streptococcus pneumoniae*. Các liên cầu khuẩn và tụ cầu khuẩn khác không bị optochin ức chế.

Phosphatase (PHO): Phosphatase kiểm tách phosphat p-nitrophenyl thành phosphat vô cơ và p-nitrophenol có màu vàng.

Bile Esculin (BE): Phát hiện các sinh vật có khả năng phát triển trong mật 40% và esculin thủy phân qua việc hình thành kết tủa đen từ phản ứng esculetin sản phẩm thủy phân với sắt (III) xitrat. Liên cầu khuẩn nhóm D, một số liên cầu khuẩn viridans và một số tụ cầu khuẩn dương tính với BE.

Pyrrolidonyl-β-naphthylamide (PYR): Các sinh vật tạo ra pyrrolidone sẽ tách L-pyrrolidonyl-β-naphthylamide thành L-pyrrolidone và β-naphthylamine. Chất này kết hợp với thuốc thử Peptidase (p-dimethyl-aminocinnamaldehyde) để tạo thành màu đỏ.

Arginin (ARG): Quá trình khử nước của arginin dẫn đến kiềm hóa môi trường được phát hiện bằng thay đổi màu vàng sang đỏ trong chỉ thị phenol đỏ.

Urê (URE): Enzym xúc tác thủy phân urê hình thành amoniac. Phát hiện kết quả tăng độ pH bằng chỉ thị phenol đỏ.

Hydrat-cacbon (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): Lên men hydrat-cacbon đặc hiệu tạo ra axit. Kết quả sụt giảm độ pH được phát hiện qua chỉ thị phenol đỏ chuyển sang vàng.

6,5% NaCl (NACL): Khả năng chịu được natri clorua 6,5% được thể hiện bằng sự sinh trưởng. Khả năng chịu muối được dùng để phân biệt enterococci và sinh vật không phải enterococci.

Bacitracin (BAC): Độ nhạy cảm với bacitracin nồng độ thấp được chỉ thị bằng tình trạng sinh trưởng kém và là đặc tính của *Streptococcus pyogenes*.

Pyruvate (PRV): Sử dụng các kết quả pyruvate dẫn đến hình thành axit. Kết quả sụt giảm độ pH được phát hiện qua chỉ thị phenol đỏ chuyển sang vàng.

Tiêu máu (HEM): Streptolysin S và O sản sinh từ liên cầu khuẩn gây ly giải hoàn toàn hoặc một phần tế bào hồng cầu trong thạch chứa máu cừu.

3. Định danh sinh vật

Biotype Lookup Program cho gram dương khô trên MicroScan được dùng để định danh các sinh vật xét nghiệm chưa xác định. Chương trình này đã được tạo từ cơ sở dữ liệu riêng của MicroScan. Lookup Program cho gram dương cung cấp dữ liệu phân tích bằng máy tính của 27 xét nghiệm đối với *Streptococcaceae* và 18 xét nghiệm đối với *Micrococcaceae*. Những xét nghiệm này được dịch tương ứng thành số kiểu sinh học gồm 9 hoặc 6 chữ số. Tham khảo chương trình này để biết phương pháp ghi kết quả. Chương trình liệt kê kết quả định danh sinh vật và các xác suất tương đối. Tất cả các xác suất được liệt kê theo thứ tự từ xác suất cao nhất đến tổng tích lũy là 99,9%. Chương trình được chia thành 2 phần: *Micrococcaceae* và *Streptococcaceae*.

Nếu xuất hiện kiểu sinh học cho kết quả "Very Rare Biotype" (Kiểu sinh học rất hiếm gặp), hãy tham khảo phần mềm LabPro (Utilities (Tiện ích)>System (Hệ thống)>Biotype Lookup (Tra cứu kiểu sinh học)) hoặc Dịch vụ Biotype Lookup trên trang web của Beckman Coulter hoặc tham khảo nhà phân phối tại địa phương bạn.

GIỚI HẠN CỦA QUY TRÌNH

1. Tài liệu M7-A7 của CLSI khuyến nghị bổ sung Dịch nuôi cấy Mueller Hinton với Máu ngựa đã ly giải khi xét nghiệm streptococci biệt dưỡng. Quy trình sử dụng panel gram dương khô trên MicroScan khác với khuyến nghị này. Nếu mức sinh trưởng trong giếng sinh trưởng không đủ, các kết quả sinh hóa sẽ không hợp lệ và phải sử dụng một phương pháp thay thế.
2. Vi khuẩn hiếu khí – Panel định danh sinh vật gram dương không phù hợp để xét nghiệm khuẩn cầu gram dương hiếu khí.
3. Có thể cần xét nghiệm bổ sung để xác định định danh cuối cùng khi thu được định danh có xác suất thấp (<85%) (tham khảo MicroScan Biotype Lookup Program dành cho sinh vật gram dương hiếu khí hoặc Microbiology Manual (Hướng dẫn vi sinh)).
4. 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.
5. 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.

6. Có thể phân biệt *E. faecium* kháng Vancomycin với *E. gallinarum* bằng cách kiểm tra tính di động và khả năng tạo ra sắc tố. Xem bảng xét nghiệm bổ sung trong Microbiology Manual (Hướng dẫn vi sinh) để biết thêm thông tin.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Để biết các giá trị dự kiến với các cơ chất sinh hóa, vui lòng tham khảo Percent Chart (Biểu đồ phần trăm) có trong Microbiology Manual (Hướng dẫn vi sinh).

KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Phải kiểm tra khả năng chấp nhận của môi trường định danh bằng cách xét nghiệm các sinh vật có các phản ứng đã biết. Kết quả của các sinh vật kiểm chuẩn do Bảo tàng giống chuẩn Hoa Kỳ (ATCC) khuyến nghị được liệt kê trong bảng sau.*

Bảng kiểm soát chất lượng cơ chất định danh gram dương khô

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	Không áp dụng	Không áp dụng
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	Không áp dụng
NOV ²	-	Không áp dụng	-	Không áp dụng
PGR ²	-	-	-	Không áp dụng
IDX	+	Không áp dụng	Không áp dụng	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	Không áp dụng
PHO	+	Không áp dụng	-	Không áp dụng
BE	-	+	+	Không áp dụng
PYR	Không áp dụng	+	-	Không áp dụng
ARG	+	+	-	Không áp dụng
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	Không áp dụng
MAN	+	+	+	-
LAC	+	Không áp dụng	+	-
TRE	Không áp dụng	+	+	-
MNS	Không áp dụng	+	+	-
NACL	Không áp dụng	+	-	Không áp dụng
SOR	Không áp dụng	+	-	Không áp dụng
ARA ²	Không áp dụng	-	-	Không áp dụng
RBS	Không áp dụng	+	-	Không áp dụng
INU	Không áp dụng	-	+	Không áp dụng
RAF	Không áp dụng	-	+	Không áp dụng
BAC ²	Không áp dụng	+	+	Không áp dụng
PRV	Không áp dụng	+	-	Không áp dụng

1. Bảo tàng giống chuẩn Hoa Kỳ (American Type Culture Collection), Manassas, VA USA
2. Tham khảo Bảng xét nghiệm bổ sung để biết các phản ứng dương tính hoặc âm tính khác nếu cần cho mỗi chất sinh hóa.
3. Có thể cần ủ 24 giờ.

N/A = Không áp dụng

GHI CHÚ: Các sinh vật Kiểm soát chất lượng được chọn để cung cấp phản ứng dương tính/âm tính cho tất cả cơ chất định danh. Do đó, định danh của sinh vật có thể khác với định danh được nêu trong bảng QC. Phải xác định khả năng chấp nhận hiệu quả của sản phẩm bằng cách so sánh kết quả xét nghiệm chứ không phải kết quả định danh.

Bảng xét nghiệm bổ sung

Sinh vật	Cơ chất	Kết quả mong đợi
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

ĐẶC TÍNH HIỆU SUẤT

Định danh

*American Type Culture Collection (Bảo tàng giống chuẩn Hoa Kỳ), Manassas, VA USA.

Hiệu quả định danh của Panel gram dương khô loại 3 trên MicroScan được thiết lập bằng cách sử dụng Panel gram dương khô loại 2 trong một nghiên cứu đa trung tâm. Các chủng vi khuẩn phân lập lâm sàng và chủng bảo tồn đã được thử nghiệm trên Panel định danh sinh vật gram dương khô loại 3 và các phương pháp ống nghiệm thông thường để biết loại quần thể vi khuẩn được kỳ vọng trong một phòng xét nghiệm lâm sàng thường quy. Tham khảo MicroScan System Microbiologics Information Manual (Hướng dẫn thông tin vi sinh vật của hệ thống MicroScan) (Phần 4: Panel gram dương khô thông thường: Vi khuẩn gram dương hiếu khí) để biết danh sách đầy đủ các sinh vật có trong cơ sở dữ liệu.

Kết quả *Micrococcaceae* trên Panel định danh sinh vật gram dương khô loại 3 tương đồng ở cả cấp nhóm và loài với 97,5% (157/161) số chủng vi khuẩn phân lập. Chỉ 5,6% (9/161) số chủng vi khuẩn phân lập cần phải xét nghiệm thêm để xác nhận định danh cấp nhóm hoặc loài có xác suất thấp.

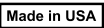
Kết quả *Streptococcaceae* theo panel định danh gram dương khô loại 3 đồng thuận ở cấp loài với 91,3% (230/252) và đồng thuận ở cấp nhóm với 92,1% (232/252). Chỉ 14,3% (36/252) chủng phân lập cần xét nghiệm bổ sung để xác nhận kết quả định danh ở cấp loài có xác suất thấp và 4,4% (11/252) để xác nhận kết quả định danh ở cấp nhóm có xác suất thấp.

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

Bảng chú giải các ký hiệu			
Ký hiệu	Tên ký hiệu	Mô tả về tiêu chuẩn	Chuẩn
	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 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 ID 3 за грам-позитивни микроорганизми

REF B1017-221

НАМЕНА

За употреба со MicroScan исушени грам-позитивни панели со ID тип 3. MicroScan исушените грам-позитивни панели со ID тип 3 се наменети за употреба при определување на идентификацијата на нивото на видот на брзо растечките аеробни и факултативните грам-позитивни коки, некои пребирливи аеробни грам-позитивни коки и *Listeria monocytogenes*. За користење со пребирливи стрептококи, видете во делот Ограничување на постапката.

КРАТОК ПРЕГЛЕД И ПРИНЦИП

Изменетите конвенционални и хромогени тестови се користат за идентификација на *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* и *Listeria monocytogenes*. Идентификацијата се заснова врз откривањето на промените на pH вредностите, на искористувањето на супстратите и на растот во присуство на антимикробни средства по инкубација од 16-44 часа на 35°C.^{1,2,3,4,5,6,7}

ПРЕДУПРЕДУВАЊЕ И МЕРКИ НА ПРЕТПАЗЛИВОСТ

1. Само за *in vitro* дијагностика.
2. Придржувајте се кон асептичните техники и кон утврдените мерки на претпазливост во однос на микробиолошки опасности во сите постапки, со посебна забелешка дека инокулираните панели содржат потенцијално патогени организми.
3. Овој материјал содржи инфективни агенси и како што е соодветно, треба да се фрли како биолошки опасен отпад.
4. Резултатите од овој тест секогаш треба да се толкуваат во врска со медицинската историја, клиничката слика и со другите наоди на пациентот.
5. Бунарче за раст со OPT содржи 0,005% хемин од говедо во кристал.

СКЛАДИРАЊЕ

Исушените грам-позитивни панели мора да се складираат на температура меѓу 2-25°C.

КЛАСИФИКАЦИЈА НА ГХС ОПАСНОСТИ

Не е класифицирано како опасно

SDS

Листот со податоци за безбедност е достапен на techdocs.beckmancoulter.com

ДОКАЗИ ЗА ВЛОШУВАЊЕ

Продолженото изложување на условите на складирање што се разликуваат од препорачаните може да има за последица хидролиза на супстратите за идентификација. Да не се користи по рокот на употреба. За дополнителна помош, контактирајте со вашиот претставник или дистрибутер на Beckman Coulter.

СОБИРАЊЕ И ПОДГОТОВКА НА ПРИМЕРОЦИ

Соодветните примероци треба да се соберат, пренесат и да се постават на примарни изолациски медиуми според процедурите што се препорачуваат во *Manual of Clinical Microbiology* (Упатство за клиничка микробиологија).⁸

ОБЕЗБЕДЕНИ МАТЕРИЈАЛИ

Позитивен ID тип 3 (B1017-221)

Прирачник за постапки

ПОТРЕБНИ МАТЕРИЈАЛИ ШТО НЕ СЕ ОБЕЗБЕДЕНИ

Макфарландов стандард на заматеност 0,5

0,5% N,N-диметил-алфа-нафтиламин, 30 mL (B1010-45A) или 250 mL (B1015-45)

0,8% сулфанилска киселина, 30 mL (B1010-44A) или 250 mL (B1015-44)

Капалка од 100 µL со стерилни врвови за еднократна употреба

5% алфа-нафтол, 30 mL (B1010-42A)

40% калиум хидроксид, 30 mL (B1010-43A) или 250 mL (B1015-43)

Садови со капак (B1010-56B)

Општа лабораториска опрема

Комплет на инокулатори-D (B1013-4)

Вода за инокулум, 3 mL (B1015-2)

Вода за инокулум со PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Прикажувач на микроразредување

Минерално масло, 60 mL (B1010-40)

Минерално масло, 250 mL (B1010-40A) – CAMO за користење со инструментите WalkAway SI и WalkAway plus (и за инструментите WalkAway надградени со функција за автоматско прекривање)

Систем за инокулација Prompt® (B1026-10D)**

Организми за контрола на квалитет (видете го делот за QC во овој прирачник)

Реагенс за пептидаза, 30 mL (B1012-30B) или 250 mL (B1015-30)

Комплет за капење реагенси (B1013-12A)

RENOK рехидратор/инокулатор (B1018-14) или еквивалент

Мерач на заматеноста

Вртежна мешалка

Хартија за бар-код лепенки (B1018-129)

Капаи за садови WalkAway (B1018-18)

ПРОЦЕДУРА

Подготовка на панел

- Издадете ги панелите што ќе се користат од склад. **Панелите не треба да се користат ако постои некој од следниве услови.**
 - Нема десикант или е скршен.
 - Бунарчињата на панелите ја губат бојата (на пример, PHO).
 - Интегритетот на амбалажата е загрозен (незапечатена, продупчена или искината).
- Исечете ја ќесичката и издадете го панелот. Ако е чуван во фрижидер, веднаш издадете го панелот од ќесичката со фолија. Почекајте панелите да се урамнотежат на собна температура пред рехидратацијата. Панелите може да бидат наредени и покриени со чист капак од садот. Сите отворени панели треба да се користат истиот ден или да се фрлат.

Позитивен ID тип 3

Супстрати за идентификација	Скрат.	Супстрати за идентификација	Скрат.
Кристално виолетово	CV	Уреа	URE
Скрининг за микрооки	MS	Манитол	MAN
Нитрат	NIT	Лактоза	LAC
Новобиоцин	NOV	Трехалоза	TRE
PNP-β-D-глукуронид	PGR	Маноза	MNS
Индоксил фосфатаза	IDX	Натриум хлорид од 6,5%	NACL
Вогес-Проскауер	VP	Сорбитол	SOR
Оптохин	OPT	Арабиноза	ARA
Фосфатаза	PHO	Рибоза	RBS
40% жолчка-ескулин	BE	Инулин	INU
L-пиридоидонил-β-нафтиламид	PYR	Рафиноза	RAF
Аргинин	ARG	Бацитрацин	BAC
PNP-β-D-галактопиранозид	PGT	Пируват	PRV

Подготовка на инокулум

CLSI препорачува периодична проверка на густините на инокулумот со пребројување на колониите. За препораки за пребројувањето на колониите, видете го документот на CLSI, M7-A7 Дел 10.3.1.3. Очекуваните резултати за *E. coli* ATCC 25922 треба да бидат блиску до 5×10^5 CFU/mL за финални тест-концентрации.⁹ Корисникот треба посебно да внимава на подготовката на инокулумот, особено со рачните методи што зависат од техниката, како што е системот Prompt или инокулумот подготвен без помош на фотометриски уред.

Напомена: Техниките за фазата за запишување и за стационарната фаза не се поддржани со производите MicroScan.

1. Стандардна техника за заматување - Примарен метод на инокулум

Стандардната техника за заматување се препорачува за директна инокулација на сите аеробни грам-позитивни коки.

*Сурфактанти PLURONIC®, регистриран заштитен знак на BASF Corporation, Парсипани, Њу Џерси, САД

**3M, St. Paul, MN USA

- A. Со помош на стерилно стапче за апликација, јамка или стапче со памук за земање брис, допрете ја површината на 4-5 големи или 5-10 мали морфолошки слични, добро изолирани колонии од 18-24-часовна неинхибирачка плоча на агар.
- B. Емулзирајте во 3 mL вода за инокулум (автоклавирана дејонизирана вода). Крајната заматеност треба да биде еквивалентна на заматеноста според Макфарландовиот стандард на заматеност 0,5. Еквивалентна заматеност може да се постигне со користење на MicroScan мерач на заматеност со опсег $0,08 \pm 0,02$. Затворете цврсто.
- C. Мешајте ја суспензијата 2-3 секунди во вртежната мешалка.
- D. Со пипета додајте 0,1 mL (100 μ L) од стандардизираната суспензија во 25 mL вода за инокулум со средството PLURONIC. Затворете цврсто. Превртете од 8-10 за да се измеша.

2. Систем Prompt

Системот Prompt може да се користи за побрзо растечките грам-позитивни коки. За соодветно користење на системот Prompt, видете го прирачникот за процедурална инокулација Prompt.

Напомена: Користете внимателно. Недоволна инокулација може да настане кај организмите што не го исполнуваат барањето за големина. Недоволната инокулација може да предизвика погрешни резултати од тестот за идентификација.

Рехидратација/инокулација на панел

Рехидратација и инокулација се спроведуваат со системот RENOK со инокулатори-D (B1013-4). Упатство за употреба побарајте во документот RENOK Operator's Manual (Упатство за операторот RENOK). Ако се користи алтернативен систем, извршете рехидратација со 115 μ L + 10 μ L вода за инокулум (PLURONIC). Треба да се постигне конечна концентрација во бунарчето од 3 до 7 $\times 10^5$ CFU/mL.

За да се обезбеди одржливост и чистота на тестираниот организам, треба да се подготви чиста плоча со нанесување на инокулум на соодветна плоча на агар и инкубирање во соодветните услови. Ако на чистата плоча се присутни два или повеќе вида колонии, повторно изолирајте ги колониите и повторно тестирајте ги.

Биохемиски прекривања

1. Со шишенце со пипета прекријте ги бунарчињата на ARG и URE со најмалку 3 капки минерално масло. (Овие бунарчиња се подвлечени на панелот.)
2. Медиумите во бунарчињата мора целосно да бидат покриени со минерално масло, но маслото не треба да излегува преку бунарчињата.

Напомена: Инструментите WalkAway *SI* и WalkAway *plus* (и инструментите WalkAway надградени со функција на автоматизирано прекривање со масло), автоматски додаваат масло во соодветните бунарчиња.

Инкубација

1. Панелите може да се инкубираат во системот WalkAway или да се инкубираат надвор од системот преку следниве чекори:
 - A. За да се обезбеди рамномерна термална дистрибуција во текот на инкубацијата, наредете ги панелите во групи од 3-5.
 - B. Ставете чист капак за сад над секоја група панели за да се спречи испарување. Капаците за садови може повторно да се користат. Не деконтаминирајте ги капаците за садови со алкохол. Може да се чистат со сапун и вода. Добро исплакнете ги и оставете ги да се исушат на воздух.
 - C. Инкубирајте ги панелите 16-20 часа на 35°C во не-CO₂ инкубатор.

Читање на панелите

Панелите може да се читаат рачно со помош на уредот MicroScan Microdilution Viewer, а резултатите да бидат забележани на рачен работен лист за панел (видете го делот Потребни материјали што не се обезбедени од овој Прирачник за постапки) или на инструментите MicroScan (системи touchSCAN-SR, autoSCAN-4 и WalkAway). За читање на панелите со инструменти MicroScan, видете го Operator's Guide (Водич за операторот).

1. По инкубација од 16-20 часа, извадете ги панелите од инкубаторот.
2. Избришете го дното на панелот со крпа што не остава влакненца за да отстраните каква било кондензација или остатоци што може да бидат присутни.
3. Читајте ги панелите само ако контролното бунарче е бистро, а бунарчето за контрола на растот е заматено. Заматеноста може да биде во форма на бела магла низ целото бунарче, на бело копче во центарот на бунарчето или на фин гранулиран раст низ бунарчето. Неадекватниот раст е дефиниран како мала белина во бунарчето или бујонот е бистар.
4. Ако резултатите се читаат рачно, евидентирајте ги резултатите на соодветен работен лист.
5. Читање на супстратите за идентификација

- A. Прочитајте ги сите супстрати за идентификација со бела заднина, освен CV, MS, NOV, OPT, NACL и BAC, кои треба да се читаат на црна (индиректно осветлена) заднина.
- B. Резултатите IDX и PHO се запишуваат по 16-20 часа инкубација.
- C. Панелите со негативен PGT и со помалку од 3 позитивни јаглехидрати треба да бидат повторно инкубирани дополнителни 24 часа пред да се направи конечно читање и идентификација.
- D. Само кај панелите што имаат 3 јаглехидрати или позитивна реакција PGT треба да се додадат реагенси по 16-20 часа. Додајте реагенси по 40-44 часа без оглед на бројот на позитивни тестови.
- E. Пред да додадете реагенси, запишете ги сите позитивни реакции.
- F. Додајте реагенси како што следува:
 - a. Додајте 1 капка 40% калиум хидроксид (KOH) и 1 капка 5% алфа-нафтол во бунарче со VP. Почекајте најмалку 20 минути пред читањето за да се развие VP-реакција.
 - b. Додајте по 1 капка 0,8% сулфанилска киселина и 0,5% N, N-диметил-алфа-нафтиламин во бунарче со NIT. Почекајте најмалку 5 минути пред читањето за да се развие NIT-реакција.
 - c. Додајте 2 капки реагенс пептидаза во бунарче со PYR. Почекајте 2 минути пред читањето.
- G. За помош во биохемиското толкување, видете го делот РЕЗУЛТАТИ.

РЕЗУЛТАТИ

1. Биохемиски толкувања

Бунарче	Реагенс	Позитивно	Негативно
CV MS NOV OPT NACL BAC		Раст	Нема раст
NIT	Додајте 1 капка 0,8% сулфанилска киселина и 1 капка 0,5% N, N-диметил-алфа-нафтиламин. Почекајте 5 минути за да се развие реакција.	Розова до црвена	Бистра (безбојна), може да биде многу светлорозова
PGR PHO PGT IDX	Која било нијанса на жолта треба да се толкува како позитивна. Користете бунарче со NOV како негативна контрола.	Жолто	Бистра (безбојна)
VP	Додајте 1 капка 40% KOH и 1 капка 5% алфа-нафтол. Почекајте најмалку 20 минути за да се развие реакција.	Розова до црвена	Бистра (безбојна) кон кафеава, може да биде матна или многу светлорозова
BE		Темнокафеава до црна	Бистра (без боја) до светлокафеава
PYR	Додајте 2 капки реагенс пептидаза. Почекајте 2 минути за да се развие реакција.	Црвена/ Портокалова до црвена	Жолта кон портокалова/црвена
ARG		Розово/ портокалово кон розово	Жолта до портокалова
URE		Розова	Жолта до портокалова
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	Секое навестување на портокалова треба да се смета за негативно.	Жолто	Портокалова до црвена
HEM		Бета	Алфа или гама
LOC	Само за препознавање на панели на системите autoSCAN-4 и WalkAway.		

Исушена грам-позитивна идентификација – Поедноставена QC на ID ¹					
Организам за QC	ATCC број	Супстрат на клучниот индикатор	Очекуван резултат	Резултат надвор од спецификацијата	Лабилен супстрат
<i>S. bovis</i>	49147	ARA	–	+	Да

1. Клучните индикатори за контрола на квалитет се обезбедени со поедноставена QC според CLSI документ M50-A.¹⁰ Пред имплементирањето на поедноставената програма QC, видете го документот M50-A за детали и проверете во важечките регулаторни агенции и групи за инспекција за да го потврдите прифаќањето.

2. Принципи на реакциите за идентификација

Кристално виолетово (CV): Раст во присуство на ниски концентрации кристално виолетово се користи за разграничување на стрептококите (позитивни) од стафилококите (главно негативни).

Micrococcus Screen (MS): Раст во присуство на ниски концентрации на бацитрацин (0,05 µg/mL) се користи за да се направи разлика меѓу стафилококи (позитивни) и микрококи (негативни).

Нитрат (NIT): Редуцирањето на нитратот на нитрит се детектира со формирање на црвена боја по додавањето на 0,8% сулфанилска киселина и 0,5% N, N-диметил-алфа-нафтиламин. Стрептококите се нитрат-негативни, а повеќето стафилококи се нитрат-позитивни.

Новобиоцин (NOV): Резистентноста на ниски концентрации (1,6 µg/mL) на новобиоцин е карактеристика на некои стафилококи.

Гликозидази (PGR, PGT): Способноста на организмот да произведе специфични гликозидаза-ензими се детектира со поделба на p-нитрофенил-јаглехидрат комплекс што ослободува p-нитрофенол што има жолта боја.

Индоксил фосфатаза (IDX): Хидролизата на индоксил фосфатаза со ензим индоксил фосфатаза резултира со нерастворливо сино соединение. Повеќето коагулаза-позитивни и DNase-позитивни стафилококи се IDX-позитивни.

Вогес-Проскауер (VP): Ацетилметилкарбинол, произведен од гликоза, реагира со 40% калиум хидроксид и 5% алфа-нафтол за да формира црвена боја.

Оптохин (OPT): Чувствителност на оптохин е карактеристика на *Streptococcus pneumoniae*. Други стрептококи и стафилококи не се инхибирани од оптохинот.

Фосфатаза (PHO): Алкалната фосфатаза го дели p-нитрофенил фосфатот на неоргански фосфат и на p-нитрофенол што има жолта боја.

Жолчка-ескулин (BE): Организмите што се способни да растат во 40% жолчка и хидролизираат ескулин се детектираат со продукција на црн талог што е резултат на реакцијата на хидролитичкиот продукт ескулетин со цитрат на железо. Стрептококи од група D, некои вириданс стрептококи и некои стафилококи се BE-позитивни.

Пиролидонил-β-нафтиламид (PYR): Организмите што продуцираат пиролидоназа го делат L-пиролидонил-β-нафтиламид на L-пиролидон и β-нафтиламин што се комбинираат со реагенс на пептидаза (p-диметил-аминоцинамалдехид) за да се продуцира црвена боја.

Аргинин (ARG): Дехидролизацијата на аргинин резултира со алкализација на медиумот што се детектира со промена на бојата од жолта во црвена во фенол црвениот индикатор.

Уреа (URE): Ензимот уреаза ја дели уреата, формирајќи амонијак. Резултирачкото зголемување на pH вредностите се детектира со фенол црвен индикатор.

Јаглехидрати (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): Ферментацијата на специфичен јаглехидрат има за резултат формирање киселина. Последователно, намалување на pH се детектира со менување на бојата на фенол црвениот индикатор во жолта.

6,5% NaCl (NACL): Толеранција до 6,5% натриум хлорид е покажана со раст. Толеранцијата на сол се користи за да се разликуваат ентерококи од неентерококи.

Бацитрацин (BAC): Чувствителноста на ниски концентрации на бацитрацин е индицирана со недостиг на раст и е карактеристика на *Streptococcus pyogenes*.

Пируват (PRV): Користењето на пируват има за резултат формирање на киселина. Намалувањето на вредноста на pH како резултат на тоа се детектира со менување на бојата на фенол црвениот индикатор во жолта.

Хемолиза (HEM): Стрептолизин S и O што се произведуваат од стрептококи, предизвикуваат целосна или делумна лиза на црвените крвни клетки во агар што содржи крв од овца.

3. Идентификација на организмот

MicroScan Biotype Lookup Program за барање исушен грам-позитивен биотип се користи за идентификација на непознати тест-организми. Оваа програма е генерирана од базата на податоци на MicroScan. Gram Positive Lookup Program обезбедува компјутерска анализа на 27 теста за *Streptococcaceae* и 18 теста за *Micrococcaceae*. Овие тестови се преведуваат во 9, односно 6-цифрен број на биотип. Во програмата, видете метод за запишување на резултатите. Програмата дава идентификација на организам и релативни веројатности. Сите

можности се наведени според редоследот, од највисоката веројатност до вкупната кумулативна вредност од 99,9%. Програмата е поделена во 2 дела: *Micrococcaceae* и *Streptococcaceae*.

Ако се појави број на биотип што резултира со „многу редок биотип“, консултирајте ги софтверот LabPro (Utilities>System>Biotype Lookup), Програмата за барање биотип на интернет-страницата на Beckman Coulter или консултирајте го вашиот локален дистрибутер.

ОГРАНИЧУВАЊЕ НА ПОСТАПКАТА

1. Документот на CLSI, M7-A7 препорачува дополнување на бујонот на Милер-Хинтон со лизирана крв од коњ при тестирање на пребирливи стрептококи. MicroScan постапката со исушени грам-позитивни панели се разликува од оваа препорака. Ако во бунарчето за раст има неадекватен раст, биохемиските резултати нема да бидат валидни и треба да се користи алтернативен метод.
2. Анаеробни бактерии - Панелите Pos ID панел не се соодветни за тестирање на анаеробни грам-позитивни коки.
3. Може да бидат потребни дополнителни тестови за да се утврди конечна идентификација кога ќе се добие идентификација со мала веројатност (<85%) (видете MicroScan Biotype Lookup Program (MicroScan Програма за барање биотип) за грам-аеробни организми или Microbiology Manual (Упатство за микробиологија)).
4. Резултатите од тестот треба да ги толкува обучен клинички персонал што треба да примени процена, знаење и дополнителни потврдни тестови кога е потребно, пред да се прифати идентификација на организмите.
5. Броевите на биотип не смеат да се користат за идентификација на фенотип на соеви изолирани од различни примероци земени од ист пациент.
6. Резистентен на ванкомицин *E. faecium* може да се разликува од *E. gallinarum* со проверка на мотилитетот и на продукцијата на пигменти. За повеќе информации, видете ја табелата со дополнителни тестови во Упатството за микробиологија.

ОЧЕКУВАНИ ВРЕДНОСТИ

За очекуваните вредности со биохемиски супстрати, видете ја Табелата со процентуални вредности во Упатството за микробиологија.

КОНТРОЛА НА КВАЛИТЕТ

Прифатливоста на медиумите за идентификација треба да се провери со тестирање на организмите со познати реакции. Резултатите за препорачаните контролни организми од American Type Culture Collection (ATCC) се наведени во следнава табела.*

Табела за контрола на квалитет на исушени грам-позитивни супстрати за идентификација

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
CV	-	+	Н/П	Н/П
MS	+	+	+	-
NIT	+	-	-	Н/П
NOV ²	-	Н/П	-	Н/П
PGR ²	-	-	-	Н/П
IDX	+	Н/П	Н/П	-
VP	+	+	+	-
OPT ²	+	+	+	Н/П
PHO	+	Н/П	-	Н/П
BE	-	+	+	Н/П
PYR	Н/П	+	-	Н/П
ARG	+	+	-	Н/П
PGT	+	+	+	-
URE	+ ³	-	-	Н/П
MAN	+	+	+	-
LAC	+	Н/П	+	-
TRE	Н/П	+	+	-
MNS	Н/П	+	+	-
NACL	Н/П	+	-	Н/П
SOR	Н/П	+	-	Н/П
ARA ²	Н/П	-	-	Н/П
RBS	Н/П	+	-	Н/П
INU	Н/П	-	+	Н/П
RAF	Н/П	-	+	Н/П

*American Type Culture Collection, Манасас, Вирџинија, САД.

	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. bovis</i> ATCC 49147	<i>M. luteus</i> ATCC 49732
BAC ²	Н/П	+	+	Н/П
PRV	Н/П	+	-	Н/П

1. American Type Culture Collection, Манасас, Вирџинија, САД

2. Податоци за дополнителни позитивни и негативни реакции според потреба за секоја биохемиска супстанција ќе видите во Табелата за дополнителни тестови.

3. Може да биде потребна инкубација од 24 часа.

Н/П = Не е применливо

НАПОМЕНА: Се избираат организми за контрола на квалитет за да дадат позитивна/негативна реакција за сите супстрати за идентификација. Како резултат на тоа, идентификациите на организмите може да се разликуваат од оние што се наведени во Табелата за QC. Прифатливоста на перформансите на производот треба да се утврдува со споредување на резултатите од тестовите, а не со идентификацијата.

Табела со дополнителни тестови

Организам	Супстрат	Очекуван резултат
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148	PGR	+
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464	ARA	+

КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЕРФОРМАНСИТЕ

Идентификација

Барањата за извршување за MicroScan исушен грам-позитивен панел тип 3 беа утврдени со помош на исушен грам-позитивен панел тип 2 во мултицентрична студија. Клиничките изолати и соевите се тестирани на панел на исушен позитивен ID тип 3 и со конвенционални методологии со епрувети за да се прикаже типот на бактериската популација што се очекува во рутинска клиничка лабораторија. Видете MicroScan System Microbiology Information Manual (Прирачник за информации за микробиологија на системот MicroScan) (Дел 4: Исушени конвенционални Pos панели: грам-позитивни аеробни бактерии) за целосна листа на организмите што се вклучени во базата на податоци.

Резултатите за исушен панел Pos ID тип 3 за *Micrococcaceae* се во согласност со видот и со нивото на групата со 97,5% (157/161) од изолатите. Само за 5,6% (9/161) од изолатите беа потребни дополнителни тестови за да се потврди идентификацијата на видот или нивото на групата со мала веројатност.

Резултатите за исушен Pos ID тип 3 панел за *Streptococcaceae* беа во согласност со нивото на видот со 91,3% (230/252) и беа во согласност со нивото на групата со 92,1% (232/252). За само 14,3% (36/252) од изолатите беа потребни дополнителни тестови за да се потврди идентификацијата на видовите со мала веројатност и 4,4% (11/252) за да се потврди идентификацијата на нивото на група со мала веројатност.

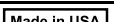
ИЗЈАВА ЗА ГАРАНЦИЈА

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 рутински 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, за сметка 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

Клуч за симболите

Симбол	Назив на симболот	Опис на стандардот	Стандард
	Каталошки број	Го означува каталошкиот број на производителот за да може да се идентификува медицинскиот уред.	ISO 15223-1, клаузула 5.1.6
	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
	<i>In Vitro</i> дијагностички медицински уред	Укажува на медицински уред што е наменет да се користи како <i>in vitro</i> 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. Facklam, R. R. 1973. Comparison of several laboratory media for presumptive identification of enterococci and group D streptococci. *Appl. Microbiol.* 26:138.
2. Facklam, R. R., and P. B. Smith. 1976. The Gram positive cocci. *Human Path.* 7:187.
3. Falk, D., and S. J. Guering. 1983. Differentiation of *Staphylococcus* and *Micrococcus* spp. with the taxo A bacitracin disk. *J. Clin. Microbiol.* 18:719.
4. Gross, K. C., M. P. Houghton, and L. B. Senterfit. 1975. Presumptive specification of *Streptococcus bovis* and other group D streptococci from human sources by using arginine and pyruvate tests. *J. Clin. Microbiol.* 1:54.
5. Kloos, W. E., and K. H. Schleifer. 1975. Simplified scheme for routine identification of human staphylococcus species. *J. Clin. Microbiol.* 1:82.
6. MacFaddin, J. F. 1980. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*, 2nd ed., Williams and Wilkins, Baltimore Md.
7. Murray, P. R., E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller (eds), 2007. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington D. C.
8. Facklam, R. R. 1971. Recognition of the group D streptococcal species of human origin by biochemical and physiological tests. *Appl. Microbiol.* 23:1131.
9. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. 2006. Approved Standard M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
10. *Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems*. 2008. CLSI Document M50-A. Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI, Wayne, PA



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