



MicroScan

Gram Negative ID2 Procedural Manual, LabPro ≥V5.0

REF B1017-27

TABLE OF CONTENTS

English	2
Français (FR)	11
Deutsch (DE)	21
Italiano (IT)	32
Español (ES)	42
Português Portugal (PT-PT)	52
Norsk (NO)	62
Ελληνικά (EL)	71
中文 (ZH-CN)	82
Lietuviškai (LT)	91
Magyar (HU)	101
Polski (PL)	111
Čeština (CZ)	122
Slovák (SK)	132
한국어 (KO)	142
Türkçe (TR)	151
Русский (RU)	161
Hrvatski (HR)	172
Български (BG)	182
中文 (ZH-TW)	193
Română (RO)	202
Србија (SR)	211
Português Brasil (PT-BR)	221
Nederlands (NL)	231
Tiếng Việt (VI)	241
Македонски (MK)	251
REFERENCES	261

MicroScan

Gram Negative ID2 Procedural Manual, LabPro ≥V5.0

REF B1017-27

INTENDED USE

MicroScan Neg ID Panel Type 2 is an *in vitro* diagnostic medical device intended for qualitative determination of identification to the species level of rapidly growing aerobic and facultatively anaerobic gram-negative bacilli from isolated colonies. The methods for incubation and results determination include full automation on WalkAway instrumentation, or non-automated offline incubation with either reading on autoSCAN-4 instrumentation or manual reading with the option to enter results into the LabPro data management system.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

SUMMARY AND PRINCIPLE

After panels are inoculated and rehydrated with a standardized suspension of organism, they are incubated for a minimum of 16 hours at 35°C. Modified conventional and chromogenic tests are used for the identification of fermentative and non-fermentative gram-negative bacilli. Identification is based on detection of pH changes, substrate utilization and growth in the presence of antimicrobial agents after 16-42 hours incubation at 35°C.¹

Neg ID Panel Type 2			
Substrates	Abbr.	Substrates	Abbr.
Glucose	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sucrose	SUC	Citrate	CIT
Sorbitol	SOR	Malonate	MAL
Raffinose	RAF	o-Nitrophenyl-β-D-Galactopyranoside	ONPG
Rhamnose	RHA	Tartrate	TAR
Arabinose	ARA	Acetamide	ACE
Inositol	INO	Cetrimide	CET
Adonitol	ADO	OF Glucose	OF/G
Melibiose	MEL	OF Base	OF/B
Urea	URE	Decarboxylase Base	DCB
Hydrogen Sulfide	H ₂ S	Nitrate	NIT
Indole	IND	Penicillin G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lysine	LYS	Kanamycin 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginine	ARG	Colistin 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornithine	ORN	Nitrofurantoin 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Tryptophan Deaminase	TDA	Cephalothin 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Esculin	ESC	Tobramycin 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Antimicrobics used for identification.

CLINICAL RELEVANCE

Identification test results are used in conjunction with other laboratory results and clinical indicators to refine therapy in symptomatic patients.

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. Single Use only. All MicroScan panels and consumables should not be reused unless otherwise noted (e.g. cover trays).
6. This product contains material(s) of animal origin from dehydrated microbiology media. Observe general safety guidelines for protection when handling this product.

STORAGE

Dried Gram Negative panels must be stored at 2 - 25°C.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

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 the procedures recommended in the *Manual of Clinical Microbiology*.²

MATERIALS PROVIDED

Neg ID Type 2 (B1017-27)

Procedural and Quality Control Manual

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

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

10% Ferric Chloride, 30 mL (B1010-48A) or 250 mL (B1015-48)

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

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

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

0.5 McFarland Turbidity Standard

100 µL pipettor

Barcode Label Paper (B1018-129)

Cover Trays (B1010-56B)

General Laboratory Equipment

Kovac's Reagent, 30 mL (B1010-41A) or 250 mL (B1015-41)

Manual Panel Worksheets (used for recording manually read results)

Microdilution viewer

Mineral Oil, 60 mL (B1010-40)

Mineral Oil, 250 mL (B1010-40A)

Oxidase reagent

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

Quality Control Report Forms

Reagent Dropper Kit (B1013-12A)

RENOK - Rehydrator/Inoculator (B1018-14) or equivalent

Turbidity Meter

Vortex

SINGLE USE MATERIALS

0.85% Autoclaved Saline, 3 mL

Disposable sterile pipette tips

Inoculator-D Set (B1013-4)

Inoculum Water, 3 mL (B1015-2)

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

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

Seal Strips (B1010-51)

WalkAway Tray Lids (B1018-18)

*PLURONIC® Surfactants. Registered trademark of BASF Corporation, Parsippany, NJ USA.

**3M, St. Paul, MN USA

PROCEDURE

Panel Preparation

1. Remove the panels to be used from storage. Do not use if the 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.
3. **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., DCB, various antimicrobics).
4. 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.

Inoculum Preparation

CLSI recommends periodically checking your inoculum densities by doing colony counts. Refer to CLSI document M07, 11th ed. 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.³ 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.

1. Turbidity Standard Technique - *Primary Inoculum Method*

The turbidity standard technique is recommended for direct inoculation of all aerobic gram-negative bacilli.

- 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).
- C. Cap tightly and vortex the suspension for 2-3 seconds.
- D. 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 .
- E. Pipet 0.1 mL (100 μ L) 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 to inoculate gram-negative bacilli. 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 susceptibility and identification test results.

Oxidase Test

Perform an oxidase test prior to inoculating panels. Record results in the appropriate space on the worksheet or as required by the instrumentation. Oxidase results support separation of taxa and early reporting of non-fermenters (e.g., *Acinetobacter baumannii* complex). For WalkAway Systems, oxidase results are recommended to be entered prior to printing barcodes. Some non-fermenters may still hold to 42 hours, depending on growth. The recommended oxidase reagent is tetramethyl-p-phenylene-diamine-dihydrochloride.

Panel Rehydration/Inoculation

Rehydration and inoculation are performed using the RENOK system with Inoculators-D (B1013-4). Refer to the RENOK Operator's Manual for use. If an alternate system are used, rehydrate with $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ Inoculum Water with PLURONIC. A final well concentration of $3\text{--}7 \times 10^5$ CFU/mL should 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. Use a dropper bottle to overlay the GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN, and DCB wells with 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 Systems (and WalkAway Systems upgraded with the automated oil overlay feature) automatically add oil to the appropriate wells.

Seal Strip

For oxidase positive gram-negative organisms only, place a seal strip over the CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B, and DCB wells. The quarter-inch locator hole in the tape should be aligned over the DCB well. For WalkAway Systems, the lid is used in lieu of a seal strip.

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 Cover Trays with alcohol. They may be cleaned with soap and water. Rinse well and allow to air dry.
 - C. Incubate the panels for a minimum of 16 hours at 35°C in a non-CO₂ incubator.

Reading the Panels

Panels can be read manually and results recorded on a Manual Panel Worksheet or on MicroScan instrumentation (autoSCAN-4, and WalkAway Systems). Refer to the Operator's Guide for reading panels with MicroScan instrumentation.

1. Following 16-20 hours of 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 well is turbid. Do not read the panel if the control well is turbid, or if there is no growth in the growth well. 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 or no growth is defined as a slight whiteness in the well or the broth is clear.
4. If results are read manually, record the results on the appropriate worksheet.

5. Reading Identification Substrates

- A. Read all identification substrates with a white background except for CET and the antimicrobials used for identification (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) which should be read against a black (indirectly lighted) background.
- B. The following substrates are always read at 16-24 hours: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. If any of the following is true:
 - a. GLU or SUC or SOR positive, or
 - b. ARG positive and OF/G positive, or
 - c. ARG positive and CET positive, or
 - d. LYS positive, or
 - e. ORN positive, or
 - f. OXI negative and OF/G positive and Fd₆₄ positive and MAL positive.

Then add reagents and read the remaining substrates at 16-24 hours of incubation. If none of the conditions above is true, reincubate panels for an additional 24 hours before adding reagents and reading the remaining substrates.

- D. If, after reincubation, the organism still appears nonreactive, check to ensure that the organism has grown in the phenol red carbohydrates (particularly if there is poor growth or no growth in the Mueller-Hinton growth control). If there is no growth in the phenol red carbohydrates, one should suspect a fastidious organism such as a halophilic *Vibrio* species. A Gram stain should be repeated to confirm that it is gram-negative.
 - a. Should a clinically significant disease due to halophilic *Vibrio* species be suspected, retest by emulsifying several colonies into 3.0 mL of sterile 0.85% saline and also perform additional testing including growth in salt, as recommended by the software. Final turbidity should be equivalent to 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. Rehydrate the panel with 25 mL of uninoculated Inoculum Water with PLURONIC using a RENOK. Using a sterile transfer pipette, add one drop (45-50 µL) of the saline suspension to each identification well including the growth, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄, and Fd₆₄ wells. All other panel processing steps should be followed.
- E. Prior to reading, add the reagents as follows:
 - a. Add 1 drop of 40% Potassium Hydroxide (KOH) and 1 drop of 5% Alpha Naphthol to the VP well. Wait at least 20 minutes for the VP reaction to develop.
 - b. Add 1 drop of 10% Ferric Chloride to the TDA well. The color will develop immediately.
 - c. Add 3 drops of MicroScan Kovac's reagent to the IND well. The color will develop immediately.

NOTE: The MicroScan Kovac's reagent is a special formula designed for the use with MicroScan Instrumentation. Only one drop need be used if panels are read manually.
 - d. Add 1 drop of 0.8% Sulfanilic Acid then 1 drop of 0.5% N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine to the NIT well. Wait at least 5 minutes prior to reading for the NIT reaction to develop.
- F. Refer to the RESULTS section for aid in biochemical interpretation.

RESULTS

1. Biochemical Interpretations

Well	Reagent	Positive	Negative
GLU		Strong Yellow only	Orange to Red
		Some non-fermenters may produce a golden color which should be considered negative.	
SUC		Yellow to Yellow/Orange	Orange to Red
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Magenta to Pink	Yellow, Orange or Light Pink
H ₂ S		Black Precipitate or Black Button	No Blackening
IND	Add 3 drops (or one drop if panel is read visually) of MicroScan Kovac's Reagent. Color develops immediately.	Pink to Red	Pale Yellow to Orange
		<i>Providencia</i> sp. may produce a pale pink ring which should be considered positive.	
Compare LYS, ARG, and ORN with DCB. These wells must be overlaid with oil for results to be valid. Purple is considered positive when comparing to a gray DCB well. Gray is considered positive when comparing to a yellow DCB well. For non-fermenters, a positive test must be significantly more purple than the base control. If the base control is purple, the basal medium has been alkalized and the LYS, ARG and ORN should all be recorded as negative. <i>Achromobacter</i> species and <i>Ochrobactrum anthropi</i> tend to do this.			
LYS		Purple to Gray	Fermenters: Yellow
ARG			Non-fermenters:
ORN		Purple	Colorless to Gray
TDA	Add 1 drop of 10% Ferric Chloride. Color develops immediately.	Any Shade of Brown	Yellow to Orange
ESC		Light Brown to Black	Beige to Colorless
VP	Add 1 drop of 40% KOH and 1 drop of 5% Alpha Naphthol. Wait at least 20 minutes for the reaction to develop.	Red	Colorless
		Some non-fermenters may produce a pale pink color after 18 hours incubation which should be considered negative.	
ONPG		Yellow	Colorless
		Compare any ONPG well which looks clear to the cetrimide well. If the ONPG shows any yellow as compared to the cetrimide well, record as positive.	
CIT		Blue to Blue-Green	Green to Yellow
MAL		Any shade of blue is considered positive	
TAR			
ACE			
CET		Growth	No Growth
OF/G		Yellow	If OF base is Green: Green to Blue
		Yellow to Green	If OF base is Blue to Blue Green: Blue
		Compare OF/G well with OF base control.	
NIT	Add 1 drop of 0.8% Sulfanilic Acid then 1 drop of 0.5% N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine. Wait at least 5 minutes for the reaction to develop.	Red	Colorless to Pale Pink

Well	Reagent	Positive	Negative
P ₄		Growth (Resistant)	No Growth
K ₄			(Susceptible)
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	For autoSCAN-4 and WalkAway System panel recognition only.		

2. Principles of Identification Reactions

Carbohydrate Fermentation (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): The fermentation of a specific carbohydrate results in acid formation and a pH drop is detected by a phenol red indicator.

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

Hydrogen Sulfide (H₂S): Hydrogen sulfide gas is produced from sodium thiosulfate and reacts with ferric ions in the medium to produce a black precipitate.

Indole (IND): The metabolism of tryptophan results in the formation of indole, which is detected by the addition of Kovac's reagent. If indole is present, a red color develops.

Lysine, Arginine, Ornithine (LYS, ARG, ORN): Decarboxylation of these amino acids results in the formation of basic amines which are detected by the bromocresol purple indicator.

Tryptophan Deaminase (TDA): Bacteria capable of deaminating tryptophan produce indolepyruvic acid, which reacts with ferric ammonium citrate in the medium after the addition of ferric chloride to produce a brown color.

Esculin Hydrolysis (ESC): Hydrolysis of esculin is detected by ferric ammonium citrate in the medium, which reacts with the hydrolytic products to form a black precipitate.

Voges-Proskauer (VP): Acetoin is produced from sodium pyruvate and is indicated by the formation of a red color after the addition of 40% Potassium Hydroxide and 5% Alpha Naphthol.

Galactosidase (ONPG): β-galactosidase hydrolyzes ortho-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside, which liberates the yellow-colored ortho-nitrophenol.

Citrate, Malonate, Acetamide, Tartrate (CIT, MAL, ACE, TAR): The utilization of these substrates as the sole source of carbon for metabolism results in a rise in pH that is detected by bromthymol blue indicator.

Oxidation-Fermentation (OF/G): The oxidation of glucose results in acid formation and a pH drop is detected by the bromthymol blue indicator. The OF/G is compared to OF/B (base) to determine if any acid has been produced.

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

Cetrimide (CET): Tolerance to cetrimide is demonstrated by growth in Mueller-Hinton broth supplemented with cetrimide.

Penicillin, Kanamycin, Colistin, Cephalothin, Nitrofurantoin, Tobramycin (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Resistance to specific concentrations of these antimicrobial agents is demonstrated by growth.

3. Organism Identification

The Biotype Lookup Program in the LabPro Information Manager and on the Beckman Coulter website is used for the identification of unknown test organisms. The program lists the organism identification and the relative probabilities, in the order of the highest probability, up to a cumulative total of 99.9%.

Should a biotype number occur that results in a "Very Rare Biotype", consult the LabPro Software (Utilities>System>Biotype Lookup), the Biotype Lookup Program on the Beckman Coulter website, or your Beckman Coulter Representative or Distributor.

LIMITATION OF THE PROCEDURE

1. *Haemophilus* and other fastidious gram-negative bacteria will not grow in Mueller-Hinton broth that is not supplemented with growth enrichment factors.
2. The procedures described herein are suitable only for facultative anaerobic and aerobic gram-negative bacilli.
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 or the Microbiology Manual).
4. The interpretation of test results requires 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. Public health officials should be notified about all isolates presumptively identified as *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* or *F. tularensis*. Confirmation of isolates of these bacteria may require specialized testing only available in reference or public health laboratories.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Blue, Blue-Green, Green	Blue, Blue-Green	Blue, Blue-Green, Green	Blue, Blue-Green, Green
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Gray to Yellow	Gray to Yellow-Gray	Yellow	N/A
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	N/A
Cf ₆ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	N/A
To ₄ ²	-	-	-	N/A

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

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

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 may produce a pale pink color in VP after 18 hours of incubation which should be interpreted as negative.

4. A weak positive reaction may be obtained with *E. coli* ATCC 25922 if panels are incubated longer than 18 hours.

5. May require 48 hours incubation.

N/A = Not Applicable

NOTE: Quality Control organisms are selected to provide positive/negative reactions for all identification substrates. As a result, 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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Organism	Substrate	Expected Result
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Dried Gram Neg Identification - Streamlined ID QC ¹					
QC Organism	ATCC Number	Key Indicator Substrate	Expected Result	Out-of- Specification Result	Labile Substrate
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Yes
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Yes

1. Key indicators for Quality Control are provided for streamlined QC per CLSI document M50-A.⁴ 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.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance claims for the MicroScan Dried Gram Negative Identification panel were established in a multicenter study. Clinical isolates and stock strains were tested on the Dried Neg ID Type 2 panel and conventional tube methodologies to represent the type of bacterial population expected in a routine clinical laboratory. Refer to the Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli section of the Microbiology Information Manual for a complete list of organisms included in the database.

Percent Agreement to Reference Method

# Tested	# Correct Identification	% Correct Identification
609	593	97.4

REPRODUCIBILITY

Reproducibility is established by testing multiple replicates under different conditions (e.g., panel lots, days, instruments, users). This may include QC strains, clinical isolates or both. Overall agreement was ≥95%.

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.

NOTICE TO USER

Any serious incident that has occurred in relation to MicroScan panels shall be reported to Beckman Coulter and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

REVISION HISTORY

REVISION	DATE	DESCRIPTION
AA	May 2022	Initial Release
AB	December 2022	Updated: Reproducibility

Symbols Key

The following symbols may be used in the labeling of Beckman Coulter Microbiology products.

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, clause 5.4.2
	Use-by-date	Indicates the date after which the medical device is not to be used.	ISO 15223-1, clause 5.1.4
	Batch Code	Indicates the manufacturer's batch code so that the batch or lot can be identified.	ISO 15223-1, clause 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

Symbols Key			
Symbol	Symbol Title	Description of Standard	Standard
	Date of Manufacture	Indicates the date when the medical device was manufactured.	ISO 15223-1, clause 5.1.3
	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, clause 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, clause 5.3.7
	Consult Instructions for Use	Indicates the need for the user to consult the instructions for use.	ISO 15223-1, clause 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
	Fragile, handle with care	Indicates a medical device that can be broken or damaged if not handled carefully.	ISO 15223-1, clause 5.3.1
	This way up	Indicates the correct upright position	ISO 7000: 0623
	Info For USA Only	Indicates information that is required only for products intended to be sold in the US.	n/a
	Prescription Use Only	Recognized by the US FDA as an alternate to "Caution: Federal law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner"	21CFR 801.109(b)(1)
	Biological Risks	Indicates that there are potential biological risks associated with the medical device. Note: This symbol is not to be confused with the "biohazard" sign intended to be used in the workplace.	ISO 15223-1, clause 5.4.1
	Danger	n/a	n/a
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

Manuel d'utilisation Gram négatif ID2, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

UTILISATION

La plaque MicroScan ID nég. de type 2 est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à l'identification qualitative au niveau de l'espèce des bacilles à Gram-négatif aérobies et à anaérobies facultatives à croissance rapide provenant de colonies isolées. Les méthodes d'incubation et de détermination des résultats incluent l'automatisation complète sur les instruments WalkAway, ou l'incubation hors ligne non automatisée avec lecture sur les instruments autoSCAN-4 ou la lecture manuelle avec la possibilité d'entrer les résultats dans le système de gestion de données LabPro.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

RÉSUMÉ ET PRINCIPE

Après inoculation et réhydratation des plaques à l'aide d'une suspension d'organismes standardisée, elles sont incubées pendant au moins 16 heures à 35 °C. Des tests chromogéniques et conventionnels modifiés sont utilisés pour l'identification des bacilles Gram-négatif fermenteurs et non fermenteurs. 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 16–42 heures d'incubation à 35 °C.¹

Plaque Neg ID Type 2			
Substrats	Abr.	Substrats	Abr.
Glucose	GLU	Voges-Proskauer	VP
Saccharose	SUC	Citrate	CIT
Sorbitol	SOR	Malonate	MAL
Raffinose	RAF	o-Nitrophényl-β-D-Galactopyranoside	ONPG
Rhamnose	RHA	Tartrate	TAR
Arabinose	ARA	Acétamide	ACE
Inositol	INO	Cétrimide	CET
Adonitol	ADO	OF Glucose	OF/G
Mélibiose	MEL	Base OF	OF/B
Urée	URE	Base pour décarboxylase	DCB
Sulfure d'hydrogène	H ₂ S	Nitrate	NIT
Indole	IND	Pénicilline G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lysine	LYS	Kanamycine 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginine	ARG	Colistine 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Omithine	ORN	Nitrofurantoïne 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Tryptophane désaminase	TDA	Céfalotine 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Esculine	ESC	Tobramycine 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Antimicrobien utilisé pour l'identification.

PERTINENCE CLINIQUE

Les résultats des tests d'identification sont utilisés conjointement avec d'autres résultats de laboratoire et indicateurs cliniques pour affiner le traitement chez les patients symptomatiques.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Pour 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. Exclusivement à usage unique. Tous les panels MicroScan et les consommables ne doivent pas être réutilisés, sauf indication contraire (par exemple, plateaux de couverture).
6. Ce produit contient des substances d'origine animale provenant de milieux de microbiologie déshydratés. Les directives générales de sécurité doivent être respectées lors de la manipulation de ce produit.

CONSERVATION

Les plaques conventionnelles pour germes à Gram négatif doivent être stockées entre 2 °C et 25 °C.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux



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

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).²

MATÉRIEL FOURNI

Neg ID Type 2 (B1017-27)

Manuel d'utilisation et de contrôle qualité

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

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

Chlorure ferrique 10 %, 30 mL (B1010-48A) ou 250 mL (B1015-48)

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

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

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

Standard de turbidité McFarland 0,5

Pipette 100 µL

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

Couvercles (B1010-56B)

Matériel de laboratoire courant

Réactif de Kovacs, 30 mL (B1010-41A) ou 250 mL (B1015-41)

Feuilles de travail pour plaques manuelles (utilisées pour enregistrer des résultats lus manuellement)

Visionneuse microdilution

Huile minérale, 60 mL (B1010-40)

Huile minérale, 250 mL (B1010-40A)

Réactif de l'oxydase

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

Formulaires de comptes rendus de résultats de contrôle qualité

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

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

Turbidimètre

Vortex

MATÉRIELS À USAGE UNIQUE

Solution saline autoclavée 0,85 %, 3 mL

Embouts de pipette stériles jetables

Ensemble d'inoculateurs-D (B1013-4)

Eau pour inoculum, 3 mL (B1015-2)

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

*Tensioactifs PLURONIC®, marque déposée de BASF Corporation, Parsippany, NJ USA.

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

Bandes d'étanchéité (B1010-51)

Couvercles de plateaux WalkAway (B1018-18)

PROCÉDURE

Préparation des plaques

1. Retirer les plaques à utiliser de la zone de stockage. Ne pas les utiliser si l'intégrité de l'emballage est compromise (emballage décollé, percé ou déchiré).
2. Ouvrir le sachet et retirer la plaque. En cas de stockage dans un réfrigérateur, retirer la plaque immédiatement du sachet en aluminium.
3. **Les plaques ne doivent pas être utilisées si l'une des conditions suivantes est remplie :**
 - A. Produit déshydratant absent ou détérioré.
 - B. Puits des plaques décolorés (p. ex. DCB, différents antimicrobiens).
4. 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.

Préparation de l'inoculum

Le CLSI recommande le contrôle périodique des densités d'inoculum en effectuant des numérations de colonies. Consulter le document M07, 11e éd. du CLSI pour connaître les recommandations en matière de numération des colonies. Les résultats attendus pour *E. coli* ATCC 25922 sont à peu près équivalents à 5×10^5 UFC/mL pour les concentrations finales testées.³ 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 (exemple : système Prompt ou préparation d'un inoculum sans l'aide d'un dispositif photométrique).

1. Technique turbidimétrique standard — *principale méthode d'inoculum*

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

- 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).
- C. Bien fermer le bouchon et mélanger la suspension au vortex pendant 2–3 secondes.
- D. 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 $0,08 \pm 0,02$.
- E. 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 inoculer les bacilles à Gram négatif. 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. La sous-inoculation peut être à l'origine d'une sensibilité et de résultats d'identification erronés au test.

Test oxydase

Effectuer un test d'oxydase avant d'inoculer les plaques. Enregistrer les résultats dans l'espace prévu à cet effet sur la feuille de travail ou conformément aux spécifications des instruments. Les résultats des tests d'oxydase sont utiles pour la séparation des taxons et pour l'identification précoce des non-fermentaires (par exemple, le complexe *Acinetobacter baumannii*). Pour les systèmes WalkAway, il est recommandé de saisir les résultats des tests d'oxydase avant l'impression des codes-barres. Certains non-fermentaires peuvent se conserver pendant 42 heures, selon leur croissance. Le réactif d'oxydase recommandé est le tétraméthyl-p-phénylène diamine dihydrochlorure.

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 $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ d'eau d'inoculum avec PLURONIC. Une concentration finale dans les puits de $3\text{--}7 \times 10^5$ UFC/mL doit être atteinte. Pour garantir la

**3M, St. Paul, MN USA

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. Utilisez un compte-gouttes pour recouvrir les puits GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN et DCB avec 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 systèmes WalkAway (et les systèmes WalkAway mis à niveau avec la fonction ajout d'huile automatique) ajoutent automatiquement l'huile dans les puits appropriés.

Bande d'étanchéité

Pour les organismes Gram négatifs positifs à l'oxydase uniquement, placer une bande d'étanchéité au-dessus des puits CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B et DCB. L'orifice de positionnement d'un quart de pouce doit être aligné au-dessus du puits DCB. Pour les systèmes WalkAway, le couvercle remplace la bande d'étanchéité.

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 avec de 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 au moins 16 heures à 35 °C dans une étuve non CO₂.

Lecture des plaques

Les plaques peuvent être lues manuellement et les résultats notés sur une feuille de travail ou sur un instrument MicroScan (systèmes autoSCAN-4 et WalkAway). Consulter le manuel d'utilisation pour la lecture des plaques avec les instruments MicroScan.

1. Après 16–20 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 croissance est trouble. Ne pas lire la plaque si le puits de contrôle est trouble ou si aucune croissance n'a eu lieu dans le puits de croissance. 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 ou une absence de croissance 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 avec un fond blanc, sauf CET et les antimicrobiens utilisés pour l'identification (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) qui doivent être lus sur un fond noir (éclairé de façon indirecte).
- B. Les substrats suivants sont toujours lus à 16–24 heures : GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Si l'une des situations suivantes est vraie :
 - a. GLU ou SUC ou SOR positif, ou
 - b. ARG positif et OF/G positif, ou
 - c. ARG positif et CET positif, ou
 - d. LYS positif, ou
 - e. ORN positif, ou
 - f. OXI négatif et OF/G positif et Fd₆₄ positif et MAL positif.

Puis ajouter les réactifs et lire les substrats restants après 16 à 24 heures d'incubation. Si aucune des conditions précédentes n'est vraie, réincuber les plaques pendant 24 heures supplémentaires avant d'ajouter les réactifs et de lire les substrats restants.

- D. Si, après réincubation, le germe ne réagit toujours pas, vérifier qu'il s'est développé dans les glucides avec rouge de phénol (en particulier dans le cas d'une faible croissance ou d'une absence de croissance dans le bouillon Mueller-Hinton de contrôle). S'il n'y a pas de croissance dans les glucides avec rouge de phénol, il faut suspecter

un germe exigeant, tel que l'espèce *Vibrio* halophile. Une coloration de Gram peut être refaite pour confirmer qu'il s'agit bien d'un Gram négatif.

- a. Si l'on suspecte une maladie cliniquement significative causée par l'espèce *Vibrio* halophile, refaire un test en mettant en suspension plusieurs colonies dans 3,0 mL de solution saline stérile à 0,85 % et effectuer également des tests complémentaires comprenant la croissance dans le sel, comme recommandé par le logiciel. La turbidité finale doit être équivalente à celle de l'étalon 0,5 McFarland. Une turbidité équivalente peut être obtenue en utilisant le turbidimètre MicroScan avec une valeur de $0,08 \pm 0,02$. Réhydrater la plaque avec 25 mL d'eau d'inoculum non inoculée avec PLURONIC à l'aide du système RENOK. Utiliser une pipette de transfert stérile, ajouter une goutte (45–50 µL) de suspension saline dans chaque puits d'identification, y compris dans les puits de croissance, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ et Fd₆₄. Toutes les autres étapes de traitement de plaques doivent être suivies.

E. Avant de lire, 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. Patienter au moins 20 minutes que la réaction VP se développe.
- b. Ajouter 1 goutte de chlorure ferrique 10 % dans le puits TDA. La couleur se développe immédiatement.
- c. Ajouter 3 gouttes de réactif de Kovacs MicroScan dans le puits IND. La couleur se développe immédiatement.
REMARQUE : le réactif de Kovacs MicroScan est une formulation spécifique conçue pour être utilisée avec les instruments MicroScan. Si les plaques sont lues manuellement, une seule goutte est nécessaire.
- d. Ajouter 1 goutte d'acide sulfanilique 0,8 %, puis 1 goutte de N,N-diméthyl-alpha-naphthylamine 0,5 % dans le puits NIT. Patienter au moins 5 minutes avant de lire pour que la réaction NIT se développe.

F. Se référer à la section RÉSULTATS pour avoir une aide sur l'interprétation biochimique.

RÉSULTATS

1. Interprétations biochimiques

Puits	Réactif	Positif	Négatif
GLU		Uniquement jaune vif	Orange à rouge
		Certains non-fermentaires peuvent produire une couleur dorée qui doit être interprétée comme un résultat négatif.	
SUC		Jaune à jaune-orange	Orange à rouge
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Magenta à rose	Jaune, orange ou rose clair
H ₂ S		Précipité noir ou bouton noir	Pas de noircissement
IND	Ajouter 3 gouttes (ou une seule si la plaque est lue visuellement) de réactif de Kovacs MicroScan. La couleur se développe immédiatement.	Rose à rouge	Jaune pâle à orange
		<i>Providencia</i> sp. peut produire un cercle rose pâle qui doit être considéré comme un résultat positif.	
Comparer LYS, ARG et ORN avec DCB. Ces puits doivent être recouverts d'huile pour que les résultats soient valides. Le violet est considéré comme positif lors de la comparaison avec un puits DCB gris. Le gris est considéré comme positif lors de la comparaison avec un puits DCB jaune. Pour les non-fermentaires, un test positif doit être significativement plus violet que le contrôle de base. Si le contrôle de base est violet, le milieu de base a été alcalinisé et LYS, ARG et ORN doivent être considérés comme négatifs. C'est ce que tendent à faire les espèces <i>Achromobacter</i> et <i>Ochrobactrum anthropi</i> .			
LYS		Violet à gris	Fermentaires : Jaune
ARG			Non-fermentaires :
ORN		Violet	Incolore à gris
TDA	Ajouter 1 goutte de chlorure ferrique 10 %. La couleur se développe immédiatement.	Toute teinte de brun	Jaune à orange
ESC		Brun clair à noir	Beige à incolore

Puits	Réactif	Positif	Négatif
VP	Ajouter 1 goutte de KOH 40 % et 1 goutte d'alpha-naphtol 5 %. Patienter au moins 20 minutes que la réaction se développe.	Rouge Certains non-fermentaires peuvent produire une couleur rose pâle après 18 heures d'incubation, ce qui doit être considéré comme un résultat négatif.	Incolore
ONPG		Jaune Comparer tout puits ONPG qui paraît clair avec le puits cétrimide. Si l'ONPG présente du jaune en comparaison avec le puits cétrimide, enregistrer le résultat comme positif.	Incolore
CIT MAL		Bleu à bleu-vert Toute nuance de bleu est considérée comme positive.	Vert à jaune
TAR ACE CET		Croissance	Aucune croissance
OF/G		Jaune Jaune à vert Comparer le puits OF/G avec le contrôle de base OF.	Si la base OF est verte : Vert à bleu Si la base OF est bleue à bleu-vert : Bleu
NIT	Ajouter 1 goutte d'acide sulfanilique 0,8 %, puis 1 goutte de N,N-diméthyl-alpha-naphthylamine 0,5 %. Patienter au moins 5 minutes que la réaction se développe.	Rouge	Incolore à rose pâle
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Croissance (résistant)	Pas de croissance (sensible)
LOC	Uniquement pour l'identification des plaques du système autoSCAN-4 et WalkAway.		

2. Principes des réactions d'identification

Fermentation des glucides (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL) : la fermentation d'un glucide spécifique est mise en évidence par la formation d'acide et une diminution du pH, détectée par un indicateur de pH fluorescent.

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.

Sulfure d'hydrogène (H₂S) : le gaz sulfure d'hydrogène est produit à partir du thiosulfate de sodium et réagit avec les ions ferriques contenus dans le milieu en produisant un précipité noir.

Indole (IND) : le métabolisme du tryptophane conduit à la formation d'indole, qui est détecté par l'ajout de réactif de Kovacs. En présence d'indole, une couleur rouge se développe.

Lysine, arginine, ornithine (LYS, ARG, ORN) : La décarboxylation de ces acides aminés conduit à la formation de bases amines, qui sont détectées par l'indicateur au pourpre de bromocrésol.

Tryptophane désaminase (TDA) : bactérie capable de désaminer le tryptophane en produisant de l'acide indole-pyruvique qui, après l'ajout de chlorure de fer, réagit avec le citrate d'ammonium ferrique en produisant une couleur marron.

Hydrolyse de l'esculine (ESC) : l'hydrolyse de l'esculine est détectée par la présence de citrate d'ammonium ferrique dans le milieu, celui-ci réagit avec les produits d'hydrolyse en formant un précipité noir.

Voges-Proskauer (VP) : l'acétoïne est produite à partir du pyruvate de sodium et est mise en évidence par la formation d'une couleur rouge après l'ajout d'hydroxyde de potassium 40 % et ensuite d'alpha-naphtol 5 %.

Galactosidase (ONPG) : la β -galactosidase hydrolyse l'ortho-nitrophényl- β -D-galactopyranoside qui libère de l'ortho-nitrophénol de couleur jaune.

Citrate, malonate, acétamide, tartrate (CIT, MAL, ACE, TAR) : l'utilisation de ces substrats comme seule source de carbone pour le métabolisme conduit à une augmentation du pH qui est détectée par un indicateur au bleu de bromothymol.

Oxydation-fermentation (OF/G) : L'oxydation du glucose conduit à une formation d'acide et à une chute du pH qui est détectée par le bleu de bromothymol. On compare l'OF/G à l'OF/B (base) pour déterminer s'il y a eu production d'acide.

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

Cétrimide (CET) : la tolérance au cétrimide est mise en évidence par une croissance dans un bouillon Mueller-Hinton supplémenté en cétrimide.

Pénicilline, kanamycine, colistine, céfalotine, nitrofurantoïne, tobramycine (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄) : la résistance à des concentrations particulières de ces antibiotiques est démontrée par la croissance.

3. Identification de l'organisme

Le Biotype Lookup Program disponible sur le logiciel de gestion des informations LabPro et sur le site Web de Beckman Coulter est utilisé pour l'identification des organismes de test inconnus. Le programme répertorie les identifications possibles de l'organisme avec les probabilités correspondantes, en les classant de la plus forte probabilité à la plus faible jusqu'à un total cumulé de 99,9 %.

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. Les bactéries fastidieuses *Haemophilus* et d'autres bactéries fastidieuses à Gram négatif ne pousseront pas dans un bouillon Mueller-Hinton qui n'aurait pas été supplémenté en facteurs de croissance.
2. Les méthodes décrites dans le présent document ne conviennent que pour les bacilles Gram négatif aérobies et anaérobies facultatifs.
3. Des tests complémentaires peuvent être nécessaires pour déterminer l'identification finale quand une identification de faible probabilité (<85 %) est obtenue (consulter le Biotype Lookup Program de MicroScan ou le Microbiology Manual).
4. 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.
5. 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.

6. Les autorités de santé publique doivent être informées de tout isolat présomptivement identifié comme *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* ou *F. tularensis*. La confirmation des isolats de ces bactéries peut nécessiter des tests spécialisés, qui ne sont disponibles qu'au sein de laboratoires de référence ou de santé publique.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Bleu, bleu-vert, vert	Bleu, bleu-vert	Bleu, bleu-vert, vert	Bleu, bleu-vert, vert
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Gris à jaune	Gris à jaune-gris	Jaune	S.O.
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	S.O.
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	S.O.
To ₄ ²	-	-	-	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 les besoins pour chaque test biochimique.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 peut produire une couleur rose pâle dans VP après 18 heures d'incubation, ce qui doit être considéré comme un résultat négatif.

4. Une faible réaction positive peut se produire avec *E. coli* ATCC 25922 si les plaques sont incubées plus de 18 heures.

5. Peut nécessiter 48 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, l'identification des organismes peut 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

Organism (Germe)	Substrat	Résultat attendu
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Organism (Germe)	Substrat	Résultat attendu
<i>S. halotidis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Identification plaque conventionnelle Gram négatif — CQ ID simplifié ¹					
Organisme de CQ	Numéro ATCC	Substrat indicateur clé	Résultat attendu	Résultat hors spécifications	Substrat labile
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Oui
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Oui

1. Les indicateurs clés de contrôle qualité sont donnés pour le CQ simplifié par le document CLSI M50-A.⁴ 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.

PERFORMANCES DU DOSAGE

Les performances de la plaque MicroScan d'identification conventionnelle pour germes à Gram négatif ont été établies dans une étude multicentrique. Des isolats cliniques et des souches en stock ont été testés sur la plaque conventionnelle de type 2 Neg ID et avec des méthodes par tube d'échantillon conventionnelles pour représenter le type de population bactérienne attendue dans un laboratoire clinique de routine. Se référer à la section Plaques (conventionnelles) pour germes à Gram négatif : section aérobies Bacilles à Gram négatif du Microbiology Information Manual pour obtenir la liste complète des germes contenus dans la base de données.

Pourcentage de concordance avec la méthode de référence

Nbre testés	Nombre d'identifications correctes	Identifications correctes en %
609	593	97,4

REPRODUCTIBILITÉ

La reproductibilité est établie en testant plusieurs répliques dans des conditions différentes (par exemple, lots de plaques, jours, instruments, utilisateurs). Il peut s'agir de souches de CQ, d'isolats cliniques ou des deux. L'accord global était $\geq 95\%$.

DÉCLARATION DE GARANTIE

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

AVIS À L'ATTENTION DE L'UTILISATEUR

Tout incident grave survenu en rapport avec les plaques MicroScan doit être notifié à Beckman Coulter et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient se trouve.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION	DATE	DESCRIPTION
AA	Mai 2022	Publication initiale
AB	Décembre 2022	Mise à jour : Reproductibilité

Légende des symboles

Les symboles suivants peuvent figurer sur les étiquettes des produits de microbiologie Beckman Coulter.

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, clause 5.4.2
	Date de péremption	Indique la date à partir de laquelle le dispositif médical ne doit plus être utilisé.	ISO 15223-1, clause 5.1.4
	Numéro de lot	Indique le numéro de lot du fabricant afin que le lot puisse être identifié.	ISO 15223-1, clause 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

Légende des symboles			
Symbole	Titre du symbole	Description de la norme	Étalon
	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, clause 5.1.3
	Représentant autorisé dans l'Union européenne	Indique le représentant autorisé dans l'Union européenne.	ISO 15223-1, clause 5.1.2
	Conenance 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, clause 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, clause 5.3.7
	Consulter le mode d'emploi	Indique que l'utilisateur doit consulter le mode d'emploi.	ISO 15223-1, clause 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, clause 5.3.1
	Sens indiqué vers le haut	Indique le sens d'orientation adéquat	ISO 7000: 0623
	Informations pour les États-Unis uniquement	Donne des informations requises uniquement pour les produits destinés à une commercialisation aux États-Unis.	S/O
	Uniquement sur prescription	Reconnu par la FDA des États-Unis comme une alternative à la mention : « Attention : conformément à la législation fédérale, ce dispositif ne peut être vendu que par un médecin ou sur prescription médicale »	21CFR 801.109(b)(1)
	Risques biologiques	Indique qu'il y a des risques biologiques potentiels associés au dispositif médical. Remarque : ce symbole ne doit pas être confondu avec le panneau « risque biologique » destiné à être utilisé sur le lieu de travail.	ISO 15223-1, clause 5.4.1
	Danger	S/O	S/O
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

Verfahrensanleitung für Gramnegativ-ID2, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

VERWENDUNGSZWECK

Das MicroScan Gramnegativ-ID-Panel des Typs 2 ist ein Medizinprodukt zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum, das für die qualitative Identifikation auf Speziesebene von schnell wachsenden aeroben und fakultativ anaeroben gramnegativen Bazillen aus isolierten Kolonien vorgesehen ist. Die Methoden für Inkubation und Ergebnisbestimmung umfassen eine Vollautomation auf WalkAway-Instrumenten oder eine nicht automatisierte, systemexterne Offline-Inkubation, entweder mit Ablesung über ein autoSCAN-4-Instrument oder manueller Ablesung mit der Option, die Ergebnisse in das LabPro-Datenmanagement-System einzupflegen.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

ZUSAMMENFASSUNG UND PRINZIP

Nachdem die Panels mit einer standardisierten Suspension des Organismus beimpft und rehydriert wurden, werden sie mindestens 16 Stunden lang bei 35 °C inkubiert. Zur Identifikation von fermentierenden und nicht fermentierenden gramnegativen Bazillen werden modifizierte konventionelle und chromogene Tests verwendet. Die Identifikation basiert auf dem Nachweis von pH-Veränderungen, Substratverbrauch und Wachstum in Gegenwart von antimikrobiellen Mitteln nach 16- bis 42-stündiger Inkubation bei 35 °C.¹

Gramnegativ-ID-Typ-2-Panel			
Substrate	Abk.	Substrate	Abk.
Glucose	GLU	Voges-Proskauer	VP
Saccharose	SUC	Citrat	CIT
Sorbit	SOR	Malonat	MAL
Raffinose	RAF	o-Nitrophenyl-β-D-Galactopyranosid	ONPG
Rhamnose	RHA	Tartrat	TAR
Arabinose	ARA	Acetamid	ACE
Inositol	INO	Cetrimid	CET
Adonitol	ADO	OF Glukose	OF/G
Melibiose	MEL	OF-Basismedium	OF/B
Harnstoff	URE	Decarboxylase-Basismedium	DCB
Schwefelwasserstoff	H ₂ S	Nitrat	NIT
Indol	IND	Penicillin G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lysin	LYS	Kanamycin 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginin	ARG	Colistin 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornithin	ORN	Nitrofurantoin 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Tryptophan-Desaminase	TDA	Cephalothin 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Aesculin	ESC	Tobramycin 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Zur Identifikation verwendete Antibiotika.

KLINISCHE RELEVANZ

Die Ergebnisse von Identifikationstests werden in Verbindung mit anderen Laborergebnissen und klinischen Indikatoren verwendet, um die Therapiemöglichkeiten bei symptomatischen Patienten einzugrenzen.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Nur für die *In-Vitro*-Diagnostik bestimmt.
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. Nur für den einmaligen Gebrauch. Sofern nicht anders angegeben (z. B. bei Deckeln), dürfen keine der MicroScan-Panels und Verbrauchsmaterialien wiederverwendet werden.
6. Dieses Produkt enthält Material(ien) tierischen Ursprungs aus dehydrierten mikrobiologischen Medien. Beim Umgang mit diesem Produkt sind die allgemeinen Sicherheitsrichtlinien zu beachten.

LAGERUNG

Gramnegativ-Trockenpanels müssen bei 2–25 °C gelagert werden.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft



Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs 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.

PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

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.²

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Gramnegativ-ID-Typ-2 (B1017-27)

Verfahrensanleitung und Qualitätskontrollhandbuch

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

α -Naphthol 5 %, 30 mL (B1010-42A)

Eisenchlorid 10 %, 30 mL (B1010-48A) oder 250 mL (B1015-48)

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

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

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

McFarland-Trübungsstandard 0,5

100- μ L-Pipettierhilfe

Barcode-Etikettenpapier (B1018-129)

Abdeckplatten (B1010-56B)

Allgemeine Laborausrüstung

Kovacsreagenz, 30 mL (B1010-41A) oder 250 mL (B1015-41)

Panelarbeitsblätter (zum Eintragen manuell abgelesener Ergebnisse)

Mikroverdünnungsbetrachter

Mineralöl, 60 mL (B1010-40)

Mineralöl, 250 mL (B1010-40A)

Oxidasereagenz

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

Qualitätskontroll-Berichtsformulare

Reagenztropferset (B1013-12A)

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

Trübungsmessgerät

Vortex-Mischer

EINWEGMATERIALIEN

Autoklavierte Kochsalzlösung 0,85 %, 3 mL

Sterile Einweg-Pipettenspitzen

Inokulator-D-Set (B1013-4)

Inokulumwasser, 3 mL (B1015-2)

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

*PLURONIC®-Tenside. Eingetragene Marke der BASF Corporation, Parsippany, NJ, USA.

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

Klebestreifen (B1010-51)

WalkAway-Plattendeckel (B1018-18)

DURCHFÜHRUNG

Vorbereitung der Panels

1. Die zu verwendenden Panels aus dem Lager entnehmen. Keine Panels verwenden, deren Verpackung nicht mehr unversehrt ist (geöffnet, punktiert oder eingerissen).
2. Den Beutel aufschneiden und das Panel entnehmen. Bei Lagerung im Kühlschrank das Panel sofort aus dem Folienbeutel nehmen.
3. **Panels dürfen nicht verwendet werden, wenn Folgendes der Fall ist:**
 - A. Trockenmittel fehlt oder ist beschädigt.
 - B. Testfelder der Panels sind verfärbt (z. B. DCB, diverse Antibiotika).
4. 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.

Inokulum-Vorbereitung

Das CLSI rät zu einer regelmäßigen Überprüfung der Inokulumdichte durch Koloniezählung. Empfehlungen zur Koloniezählung sind dem CLSI-Dokument M07, 11. Ausgabe, zu entnehmen. Die erwarteten Ergebnisse für *E. coli* ATCC 25922 sollten bei der Endkonzentration des Tests bei ca. 5×10^5 KBE/mL liegen.³ Der Benutzer muss besondere Sorgfalt bei der Inokulumvorbereitung walten lassen, insbesondere bei manuellen, technikabhängigen Methoden wie dem Prompt-System oder ohne Fotometer angefertigtem Inokulum.

1. Standardtrübungstechnik – primäre Inokulum-Methode

Die Standard-Trübungstechnik wird für die direkte Inokulation mit allen aeroben, gramnegativen Stäbchenbakterien empfohlen.

- 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.
- C. Das Gefäß gut verschließen und die Suspension 2–3 Sekunden lang mittels Vortex mischen.
- D. 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.
- E. 0,1 mL (100 µL) 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 zum Beimpfen von gramnegativen Stäbchenbakterien 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 Empfindlichkeits- und Identifikationstests verfälschen.

Oxidasetest

Vor dem Inokulieren der Panels einen Oxidasetest durchführen. Die Ergebnisse in das entsprechende Panelarbeitsblatt oder nach Aufforderung durch das Instrument eintragen. Ergebnisse des Oxidasetests ermöglichen die Separation von Taxa und die frühe Meldung von Non-Fermentern (z. B. *Acinetobacter baumannii*-Komplex). Bei Verwendung von WalkAway-Systemen wird empfohlen, die Ergebnisse des Oxidasetests vor dem Ausdrucken der Barcodes einzutragen. Einige Non-Fermenter sind je nach Wachstum bis zu 42 Stunden lang haltbar. Als Oxidase-Reagenz wird Tetramethyl-p-phenylen-diamin-dihydrochlorid empfohlen.

Rehydrierung/Inokulation des Panels

Rehydrierung und Inokulation erfolgen mit dem RENOK-System und Inoculators-D (B1013-4). Siehe das Dokument RENOK Operator's Manual (RENOK-Bedienerhandbuch). Wenn ein anderes System verwendet wird, mit $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ Inokulumwasser mit PLURONIC rehydrieren. Im Testfeld sollte eine Endkonzentration von $3\text{--}7 \times 10^5$ KBE/mL erzielt werden.

**3M, St. Paul, MN USA

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 zur Reinheitskontrolle zwei oder mehr Kolonietypen vorliegen, die Kolonien erneut isolieren und nochmals testen.

Ölüberschichtung bestimmter biochemischer Substrate

1. Die Testfelder GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN und DCB mit 3 Tropfen Mineralöl aus einer Tropfflasche 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-Systeme (sowie WalkAway-Systeme, die mit der automatischen Ölüberschichtungsfunktion ausgerüstet wurden) fügen den entsprechenden Testfeldern automatisch Öl hinzu.

Klebestreifen

Nur bei oxidasepositiven gramnegativen Organismen die Testfelder CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B und DCB mit einem Klebestreifen verschließen. Die Positionieröffnung von 1/4 Zoll im Streifen muss sich über dem DCB-Testfeld befinden. Bei WalkAway-Systemen ersetzt der Deckel den Klebestreifen.

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. Panels mindestens 16 Stunden lang bei 35 °C in einem CO₂-freien Inkubator inkubieren.

Ablesen der Panels

Die Panels können manuell abgelesen und die Ergebnisse in ein manuelles Panelarbeitsblatt eingetragen werden. Alternativ kann die Ablesung auch über ein MicroScan-Instrument (autoSCAN-4- und WalkAway-Systeme) vorgenommen werden. Für Informationen zum Ablesen von Panels mit MicroScan-Instrumenten ist das Bedienerhandbuch zu konsultieren.

1. Nach einer Inkubation von 16–20 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. Panelergebnisse nicht ablesen, wenn das Kontrolltestfeld getrübt oder in dem Wachstumstestfeld kein Wachstum eingetreten ist. 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 oder fehlendes 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 Identifikationssubstrate sind gegen einen weißen Hintergrund abzulesen. Hiervon ausgenommen sind CET und die für die Identifikation verwendeten antimikrobiellen Mittel (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), die vor einem schwarzen (indirekt beleuchteten) Hintergrund abzulesen sind.
- B. Folgende Substrate werden immer nach 16 bis 24 Stunden abgelesen: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. In Fällen, in denen irgendeiner der folgenden Punkte zutrifft:
 - a. GLU oder SUC oder SOR positiv oder
 - b. ARG positiv und OF/G positiv oder
 - c. ARG positiv und CET positiv oder
 - d. LYS positiv oder
 - e. ORN positiv oder
 - f. OXI negativ und OF/G positiv und Fd₆₄ positiv und MAL positiv.

Anschließend die Reagenzien zugeben und die verbleibenden Substrate nach 16- bis 24-stündiger Inkubation ablesen. Wenn keine der oben genannten Bedingungen zutrifft, die Panels vor dem Zugeben der Reagenzien und vor dem Ablesen der verbleibenden Substrate weitere 24 Stunden inkubieren.

- D. Wenn der Organismus nach der erneuten Inkubation immer noch nicht reaktiv zu sein scheint, überprüfen, ob es in den Phenolrot-Kohlenhydraten zu einem Wachstum des Organismus gekommen ist (insbesondere, wenn in der Müller-Hinton-Wachstumskontrolle kein oder nur geringes Wachstum zu verzeichnen ist). Wenn kein Wachstum in den Phenolrot-Kohlenhydraten besteht, sollte ein anspruchsvoller Organismus wie eine halophile *Vibrio*-Spezies vermutet werden. Eine Gramfärbung sollte wiederholt werden, um die Gramnegativität zu bestätigen.
- a. Bei Verdacht auf eine klinisch signifikante Erkrankung durch eine halophile *Vibrio*-Spezies den Test durch Emulgieren mehrerer Kolonien in 3,0 mL steriler, 0,85%iger Kochsalzlösung wiederholen und weitere Tests, z. B. Wachstum in Kochsalzlösung, durchführen, wie von der Software empfohlen. 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 ±0,02 erzielt werden. Das Panel mit 25 mL nicht beimpftem Inokulumwasser mit PLURONIC mit dem RENOK rehydrieren. Mit einer sterilen Transferpipette einen Tropfen (45–50 µL) der Kochsalzlösung auf jedes Identifikationstestfeld auftragen, einschließlich der Testfelder für Wachstum, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ und Fd₆₄. Alle anderen Panelbearbeitungsschritte sind zu befolgen.
- E. Vor dem Ablesen die Reagenzien wie folgt zugeben:
- a. 1 Tropfen 40%ige Kaliumhydroxidlösung (KOH) und 1 Tropfen 5%iges α-Naphthol zum VP-Testfeld hinzufügen. Mindestens 20 Minuten warten, damit die VP-Reaktion sich entwickeln kann.
- b. In das TDA-Testfeld 1 Tropfen 10%iges Eisenchlorid geben. Die Färbung entwickelt sich sofort.
- c. 3 Tropfen MicroScan-Kovacsreagenz in das IND-Testfeld geben. Die Färbung entwickelt sich sofort.
- HINWEIS:** Das MicroScan-Kovacsreagenz wurde speziell für den Einsatz in Verbindung mit MicroScan-Instrumenten entwickelt. Bei manueller Ablesung der Panels ist nur ein Tropfen erforderlich.
- d. Erst 1 Tropfen 0,8%ige Sulfanilsäure und dann 1 Tropfen 0,5%ige N,N-Dimethyl-α-Naphthylaminlösung zum NIT-Testfeld zugeben. Vor dem Ablesen mindestens 5 Minuten warten, damit die NIT-Reaktion sich entwickeln kann.
- F. Informationen zur Unterstützung bei der biochemischen Interpretation sind dem Abschnitt „ERGEBNISSE“ zu entnehmen.

ERGEBNISSE

1. Biochemische Interpretationen

Testfeld	Reagenz	Positiv	Negativ
GLU		Nur stark gelb	Orangefarben bis rot
		Einige Non-Fermenter können eine goldene Färbung aufweisen, die als negativ zu interpretieren ist.	
SUC		Gelb bis gelb/orangefarben	Orangefarben bis rot
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Purpurrot bis rosa	Gelb, orangefarben oder blassrosa
H ₂ S		Schwarze Ausfällung oder schwarzes knopfförmiges Wachstum	Keine Schwarzfärbung
IND	3 Tropfen (oder einen Tropfen bei visueller Ablesung des Panels) MicroScan-Kovacsreagenz zugeben. Die Färbung entwickelt sich sofort.	Rosa bis rot	Hellgelb bis orangefarben
		<i>Providencia</i> sp. kann einen blassrosafarbenen Ring erzeugen, der als positiv zu werten ist.	

Testfeld	Reagenz	Positiv	Negativ
LYS, ARG und ORN mit DCB vergleichen. Diese Testfelder müssen mit Öl überschichtet werden, um gültige Ergebnisse zu erhalten. Purpur wird beim Vergleich mit einem grauen DCB-Testfeld als positiv bewertet. Grau wird beim Vergleich mit einem gelben DCB-Testfeld als positiv bewertet. Für Non-Fermenter muss ein positiver Test eine signifikant stärkere Purpurfärbung aufweisen als die Basiskontrolle. Wenn die Basiskontrolle eine purpurne Färbung zeigt, wurde das Basismedium alkalisiert und LYS, ARG und ORN sollten als negativ bewertet werden. Dies kann bei Spezies von <i>Achromobacter</i> und <i>Ochrobactrum anthropi</i> vorkommen.			
LYS		Purpur bis grau	Fermenter: Gelb
ARG			Non-Fermenter:
ORN		Purpur	Farblos bis grau
TDA	1 Tropfen 10%iges Eisenchlorid zugeben. Die Färbung entwickelt sich sofort.	Jeder Brauntön	Gelb bis orangefarben
ESC		Hellbraun bis schwarz	Beige bis farblos
VP	1 Tropfen 40%ige KOH-Lösung und dann 1 Tropfen 5%iges α -Naphthol hinzufügen. Mindestens 20 Minuten warten, damit die Reaktion sich entwickeln kann.	Rot	Farblos
		Einige Non-Fermenter können nach 18-stündiger Inkubation eine blassrosa Färbung aufweisen, die als negativ zu interpretieren ist.	
ONPG		Gelb	Farblos
		Alle ONPG-Testfelder, die farblos aussehen, mit dem Cetrimid-Testfeld vergleichen. Wenn das ONPG-Testfeld gegenüber dem Cetrimid-Testfeld auch nur die geringste Gelbfärbung zeigt, als positiv angeben.	
CIT		Blau bis blaugrün	Grün bis gelb
MAL		Alle Blautöne als positiv bewerten	
TAR			
ACE			
CET		Wachstum	Kein Wachstum
OF/G			Wenn das OF-Basismedium eine Grünfärbung aufweist:
		Gelb	Grün bis blau
			Wenn das OF-Basismedium eine Blau- bis Blaugrünfärbung aufweist:
		Gelb bis grün	Blau
		OF/G-Testfeld mit OF-Basiskontrolle vergleichen.	
NIT	1 Tropfen 0,8%ige Sulfanilsäure und dann 1 Tropfen 0,5%ige N,N-Dimethyl- α -Naphthylaminlösung hinzufügen. Mindestens 5 Minuten warten, damit die Reaktion sich entwickeln kann.	Rot	Farblos bis blassrosa
P ₄		Wachstum (resistent)	Kein Wachstum (empfindlich)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Nur für autoSCAN-4- und WalkAway-Panellesesysteme.		

2. Grundlagen der Identifikationsreaktionen

Kohlenhydrat-Fermentation (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Die Vergärung eines speziellen Kohlenhydrats führt zu Säurebildung. Durch den Indikator Phenolrot wird ein Abfall des pH-Werts nachgewiesen.

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

Schwefelwasserstoff (H₂S): Schwefelwasserstoffgas wird aus Natriumthiosulfat gebildet und erzeugt durch Reaktion mit den Eisenionen im Medium ein schwarzes Präzipitat.

Indol (IND): Der Tryptophan-Stoffwechsel führt zur Bildung von Indol, das durch Zugabe von Kovacs-Reagenz nachgewiesen wird. Bei Vorhandensein von Indol entwickelt sich eine rote Färbung.

Lysin, Arginin, Ornithin (LYS, ARG, ORN): Durch die Decarboxylierung dieser Aminosäuren entstehen basische Amine, die durch den Indikator Bromkresolpurpur nachgewiesen werden.

Tryptophan-Desaminase (TDA): Bakterien, die zur Desaminierung von Tryptophan in der Lage sind, erzeugen Indol-Brenztraubensäure, die nach Zugabe von Eisenchlorid mit dem Ammoniumeisencitrat im Medium unter Bildung eines braunen Farbstoffs reagiert.

Aesculinhydrolyse (ESC): Die Aesculinhydrolyse wird durch das Ammoniumeisencitrat im Medium nachgewiesen, das mit den Hydrolyseprodukten reagiert und eine schwarze Ausfällung bildet.

Voges-Proskauer (VP): Acetoin wird aus Natriumpyruvat gebildet. Nach Zugabe von 40%igem Kaliumhydroxid und 5%igem α -Naphthol zeigt eine rote Färbung die Verbindung an.

Galactosidase (ONPG): β -Galactosidase hydrolysiert Ortho-Nitrophenyl- β -D-Galactopyranosid, wodurch gelbes Ortho-Nitrophenol freigesetzt wird.

Citrat, Malonat, Acetamid, Tartrat (CIT, MAL, ACE, TAR): Bei Verwendung dieser Substanzen als einzige Kohlenstoffquelle für Stoffwechselvorgänge kommt es zu einem pH-Anstieg, der durch den Indikator Bromthymolblau nachgewiesen werden kann.

Oxidations-Fermentation (OF/G): Die Oxidation von Glukose führt zur Säurebildung. Das hierdurch verursachte Absinken des pH-Werts wird durch den Indikator Bromthymolblau nachgewiesen. Um festzustellen, ob es zur Säurebildung gekommen ist, wird OF/G mit OF/B (Basismedium) verglichen.

Nitrat (NIT): Die Fähigkeit eines Organismus, Nitrat zu Nitrit zu reduzieren, wird bei Vorhandensein von Nitrit durch eine Rotfärbung nach Zugabe von N,N-Dimethyl- α -Naphthylamin und Sulfanilsäure nachgewiesen.

Cetrimid (CET): Eine Toleranz gegenüber Cetrimid wird durch ein Wachstum in Müller-Hinton-Bouillon, die mit Cetrimid angereichert wurde, nachgewiesen.

Penicillin, Kanamycin, Colistin, Cephalothin, Nitrofurantoin, Tobramycin (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Eine Resistenz gegen spezifische Konzentrationen dieser antimikrobiellen Mittel wird durch ein Wachstum nachgewiesen.

3. Organismusidentifikation

Das Biotype Lookup Program in der Software LabPro-Informationsmanager und auf der Website von Beckman Coulter wird für die Identifikation unbekannter Testorganismen verwendet. Das Programm listet die Organismusidentifikation und die relative Wahrscheinlichkeit auf, und zwar in der Reihenfolge der höchsten Wahrscheinlichkeit bis zu einem kumulativen Gesamtwert von 99,9 %.

Ziehen Sie bei einer Biotypnummer 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 Beckman Coulter-Mitarbeiter oder Händler.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. *Haemophilus* und andere anspruchsvolle gramnegative Bakterien wachsen nur dann in Müller-Hinton-Bouillon, wenn diese mit Wachstumsfaktoren angereichert ist.
2. Die hierin beschriebenen Verfahrensweisen sind entweder für anaerobe oder aerobe gramnegative Stäbchenbakterien geeignet.
3. Es können zusätzliche Tests für die endgültige Identifikation erforderlich sein, wenn eine Identifikation mit geringer Wahrscheinlichkeit vorliegt (< 85 %, siehe MicroScan Biotype Lookup Program oder das Dokument „Microbiologics Manual“ (Handbuch für Mikrobiologie)).
4. Die Interpretation von Testergebnissen muss durch geschultes klinisches Personal erfolgen. Alle Organismusidentifikationen sind unter Anwendung des geschulten klinischen Urteils und einschlägiger Fachkenntnisse sowie bedarfsweise auch zusätzlicher Bestätigungstests zu überprüfen.
5. Biotypnummern sind für die Phänotypidentifikation von Stämmen, die aus verschiedenen Proben desselben Patienten isoliert wurden, nicht heranzuziehen.

6. Jegliche Isolate, die mutmaßlich als *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* oder *F. tularensis* identifiziert wurden, sind unbedingt den Gesundheitsbehörden zu melden. Die Überprüfung der Isolate dieser Bakterien erfordert unter Umständen spezielle Testverfahren, die ausschließlich in Referenzlaboren oder Laboren der Gesundheitsbehörden durchgeführt werden können.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Blau, Blaugrün, Grün	Blau, Blaugrün	Blau, Blaugrün, Grün	Blau, Blaugrün, Grün
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Grau bis Gelb	Grau bis Gelbgrau	Gelb	n. z.
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	n. z.
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	n. z.
To ₄ ²	-	-	-	n. z.

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA
2. Die Zusatztesttabelle liefert für jede biochemische Substanz weitere Informationen über positive oder negative Reaktionen.
3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 kann nach 18 Stunden Inkubation eine hellrosa Färbung in VP aufweisen, die als negativ zu interpretieren ist.
4. Mit *E. coli* ATCC 25922 kann es zu einer schwachpositiven Reaktion kommen, wenn die Panels länger als 18 Stunden inkubiert werden.
5. Kann 48 Stunden Inkubationszeit erfordern.

n. z. = nicht zutreffend

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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-

*American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA

Organismus	Substrat	Erwartetes Ergebnis
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Gramnegativ-Identifikation mit Trockenpanels – Vereinfachte ID-QK ¹					
QK-Organismus	ATCC-Nummer	Wichtiges Indikatorsubstrat	Erwartetes Ergebnis	Ergebnis außerhalb des Spezifikationsbereichs	Labiles Substrat
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Ja
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Ja

1. Wichtige Indikatoren für die Qualitätskontrolle werden für die vereinfachte QK durch das CLSI-Dokument M50-A zur Verfügung gestellt.⁴ 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.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsmerkmale des MicroScan-Gramnegativ-Trockenpanels zur Identifikation wurden in einer multizentrischen Studie nachgewiesen. Klinische Isolate und Standardstämme wurden mit Gramnegativ-ID-Typ-2-Trockenpanels und herkömmlichen Röhrenverfahren getestet, um die Art von Bakterienpopulationen nachzubilden, die in einem normalen klinischen Labor erwartet werden. Eine vollständige Liste der in der Datenbank enthaltenen Organismen ist dem Dokument „Microbiology Information Manual“ (Handbuch für mikrobiologische Informationen), Abschnitt „Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli“ ((Konventionelle) Gramnegativ-Trockenpanels: gramnegative aerobe Stäbchenbakterien), zu entnehmen.

Prozentuale Übereinstimmung mit Referenzmethode

Testzahl	# korrekte Identifikation	% korrekte Identifikation
609	593	97,4

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit ergibt sich aus der Untersuchung mehrerer Replikate unter verschiedenen Bedingungen (z. B. Panel-Chargen, Tage, Instrumente, Benutzer). Hierzu können QK-Stämme, klinische Isolate oder beides gehören. Die Gesamtübereinstimmung lag bei $\geq 95\%$.

GARANTIEERKLÄRUNG

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

BENUTZERHINWEIS

Alle schwerwiegenden Vorkommnisse, die sich in Verbindung mit der Verwendung von MicroScan-Panels ereignen, müssen Beckman Coulter und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem sich der Benutzer und/oder der Patient befindet, gemeldet werden.

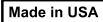
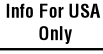
REVISIONSVERLAUF

REVISION	DATUM	BESCHREIBUNG
AA	Mai 2022	Erste Version
AB	Dezember 2022	Aktualisiert: Reproduzierbarkeit

Liste der Symbole

Die folgenden Symbole können bei der Etikettierung der mikrobiologischen Produkte von Beckman Coulter zum Einsatz kommen.

Liste der Symbole			
Symbol	Symbolbezeichnung	Beschreibung der Norm	Standard
②	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, Abschnitt 5.4.2
🕒	Verfallsdatum	Gibt das Datum an, nach dem das medizinische Gerät nicht mehr verwendet werden soll.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.1.4

Liste der Symbole			
Symbol	Symbolbezeichnung	Beschreibung der Norm	Standard
	Seriencode	Gibt den Seriencode des Herstellers an, damit die Serie oder die Charge identifiziert werden kann.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.1.5
	Katalognummer	Gibt die Katalognummer des Herstellers an, damit das medizinische Gerät identifiziert werden kann.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.1.6
	Hersteller	Gibt den Hersteller von medizinischen Geräten im Sinne der EU-Richtlinien 90/385/EWG, 93/42/EWG und 98/79/EG an.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.1.1
	Herstellungsdatum	Gibt das Datum an, an dem das medizinische Gerät hergestellt wurde.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.1.3
	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, Abschnitt 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, Abschnitt 5.3.7
	Siehe Gebrauchsanweisung	Zeigt an, dass der Benutzer die Gebrauchsanweisung beachten muss.	ISO 15223-1, Abschnitt 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, Abschnitt 5.3.1
	Diese Seite nach oben	Zeigt die richtige aufrechte Position an	ISO 7000: 0623
	Nur für die USA bestimmte Information	Kennzeichnet Informationen, die lediglich für Produkte relevant sind, die in den USA vertrieben werden sollen.	n. z.
	Verschreibungspflichtig	Wird von der US-amerikanischen Lebens- und Arzneimittelbehörde (FDA) als Alternative zu „Vorsicht: Das US-Bundesgesetz untersagt den Verkauf dieses Geräts, sofern der Verkauf nicht durch oder auf Veranlassung eines approbierten Arztes erfolgt“ angesehen.	21CFR 801.109(b)(1)
	Biologische Risiken	Hinweis auf potenzielle biologische Risiken in Zusammenhang mit dem Medizinprodukt. Hinweis: Dieses Symbol darf nicht mit dem Warnzeichen „Biogefährdung“ verwechselt werden, das für die Verwendung am Arbeitsplatz gedacht ist.	ISO 15223-1, Abschnitt 5.4.1
	Gefahr	n. z.	n. z.
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 Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

MicroScan

Manuale delle procedure per Gram-negativi ID2, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

USO PREVISTO

Il pannello MicroScan ID neg tipo 2 è un dispositivo medico per la diagnosi *in vitro* da utilizzare per la determinazione qualitativa dell'identificazione a livello di specie di bacilli gram-negativi a crescita rapida aerobi e facoltativamente anaerobi provenienti da colonie isolate. I metodi per l'incubazione e la determinazione dei risultati includono la completa automazione sulla strumentazione WalkAway o l'incubazione non automatizzata offline con lettura su strumentazione autoSCAN-4 o lettura manuale con l'opzione di inserire i risultati nel sistema di gestione dati LabPro.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RIEPILOGO E PRINCIPIO

Una volta inoculati e reidratati con una sospensione standardizzata di organismo, i pannelli vengono incubati per un minimo di 16 ore a 35 °C. Per l'identificazione dei bacilli Gram-negativi fermentanti e non fermentanti vengono utilizzati test cromogenici e convenzionali modificati. L'identificazione si basa su individuazione delle variazioni di pH, utilizzo del substrato e crescita in presenza di agenti antimicrobici dopo 16–42 ore di incubazione a 35 °C.¹

Pannello negativo ID tipo 2			
Substrati	Abbr.	Substrati	Abbr.
Glucosio	GLU	Voges-Proskauer	VP
Saccarosio	SUC	Citrato	CIT
Sorbitolo	SOR	Malonato	MAL
Raffinosio	RAF	o-nitrofenil-β-D-galattopiranoside	ONPG
Ramnosio	RHA	Tartrato	TAR
Arabinosio	ARA	Acetamide	ACE
Inositolo	INO	Cetrimide	CET
Adonitolo	ADO	Glucosio OF	OF/G
Melibiosio	MEL	Base OF	OF/B
Urea	URE	Base decarbossilasi	DCB
Solfuro di idrogeno	H ₂ S	Nitrati	NIT
Indolo	IND	Penicillina G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lisina	LYS	Kanamicina 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginina	ARG	Colistina 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornitina	ORN	Nitrofurantoina 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Triptofano deaminasi	TDA	Cefalotina 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Esculina	ESC	Tobramicina 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Antimicrobici utilizzati per l'identificazione.

RILEVANZA CLINICA

I risultati dei test di identificazione vengono utilizzati insieme ad altri risultati di laboratorio e indicatori clinici per affinare la scelta della terapia nei pazienti sintomatici.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Esclusivamente 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. Esclusivamente monouso. Salvo diversa indicazione, i pannelli e i consumabili MicroScan (ad es. i coperchi) non devono essere riutilizzati.
6. Questo prodotto contiene materiali di origine animale derivanti da terreni di coltura per microbiologia disidratati. Osservare le linee guida generali di sicurezza relative alla protezione durante l'utilizzo di questo prodotto.

CONSERVAZIONE

Conservare i pannelli gram-negativi disidratati a 2–25 °C.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso



La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo
beckmancoulter.com/techdocs

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.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

I campioni devono essere raccolti, trasportati e seminati su terreni di coltura in base alle procedure indicate nel *Manual of Clinical Microbiology (Manuale di microbiologia clinica)*.²

MATERIALI FORNITI

Pannello negativo ID tipo 2 (B1017-27)

Manuale d'uso e del controllo di qualità

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

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

Cloruro ferrico 10%, 30 mL (B1010-48A) o 250 mL (B1015-48)

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

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

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

Standard di torbidità 0,5 McFarland

Pipettatrice 100 µL

Carta per etichette codici a barre (B1018-129)

Coperchi (B1010-56B)

Attrezzatura generale di laboratorio

Reagente di Kovac, 30 mL (B1010-41A) o 250 mL (B1015-41)

Fogli di lavoro per pannelli manuali (utilizzati per la registrazione dei risultati letti manualmente)

Visualizzatore per microdiluizioni

Olio minerale, 60 mL (B1010-40)

Olio minerale, 250 mL (B1010-40A)

Reagente ossidasi

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

Moduli di report del controllo di qualità

Kit contagocce reagente (B1013-12A)

RENOK - Reidratatore/inoculatore (B1018-14) o equivalente

Turbidimetro

Vortex

MATERIALI MONOUSO

Soluzione salina autoclavata 0,85%, 3 mL

Puntali delle pipette sterili monouso

Set Inoculator-D (B1013-4)

Acqua per inoculo, 3 mL (B1015-2)

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

*Tensioattivi PLURONIC®. Marchio di BASF Corporation, Parsippany, NJ USA.

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

Strisce sigillanti (B1010-51)

Coperchi WalkAway (B1018-18)

PROCEDURA

Preparazione dei pannelli

1. Estrarre dalla confezione i pannelli da utilizzare. Non utilizzare se l'integrità dell'imballaggio è stata compromessa (dissigliato, forato o strappato).
2. Aprire l'involucro e rimuovere il pannello. Se conservato in frigorifero, estrarre subito il pannello dall'involucro.
3. **Non utilizzare i pannelli in presenza delle seguenti condizioni:**
 - A. Essiccante non presente o danneggiato.
 - B. I pozzetti dei pannelli sono scoloriti (es. DCB, vari antimicrobici).
4. 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.

Preparazione dell'inoculo

Il CLSI raccomanda di verificare periodicamente le densità degli inoculi mediante conta delle colonie. Per le raccomandazioni relative ai conteggi delle colonie, consultare il documento M07 del CLSI, 11a ed. 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.³ Prestare attenzione alla preparazione dell'inoculo, in particolare con i metodi manuali dipendenti dalla tecnica, come il sistema Prompt, o inoculo preparato senza l'aiuto di un dispositivo fotometrico.

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 bacilli Gram-negativi aerobi.

- 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).
- C. Tappare bene e miscelare la sospensione su vortex per 2–3 secondi.
- D. 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 $0,08 \pm 0,02$.
- E. Pipettare 0,1 mL (100 µL) della sospensione standardizzata in 25 mL di acqua per inoculo con PLURONIC. Tappare bene. Capovolgere 8–10 volte per mescolare.

2. Sistema Prompt

È possibile utilizzare il sistema Prompt per inoculare i bacilli Gram-negativi. Per un utilizzo corretto del sistema Prompt, consultare il Prompt Inoculation Procedural Manual (Manuale delle procedure 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 la sensibilità e l'attendibilità dei risultati dei test di identificazione.

Test dell'ossidasi

Prima dell'inoculazione dei pannelli eseguire il test dell'ossidasi. Registrare i risultati nello spazio appropriato sul foglio di lavoro o come richiesto dalla strumentazione. I risultati dell'ossidasi supportano la separazione di taxa e la segnalazione precoce di non fermentanti (ad es. complesso *Acinetobacter baumannii*). Per i sistemi WalkAway, si consiglia di inserire i risultati dell'ossidasi prima della stampa dei codici a barre. Alcuni non fermentanti possono resistere ancora fino a 42 ore, in base alla crescita. Il reagente ossidasi raccomandato è il tetrametil-p-fenilendiamina dicloridrato.

Reidratazione/inoculazione dei pannelli

La reidratazione e l'inoculazione vengono eseguite utilizzando il sistema RENOK con Inoculators-D (B1013-4). Per l'uso, consultare il RENOK Operator's Manual (Manuale dell'operatore del sistema RENOK). Se si utilizza un sistema alternativo, reidratare con $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ di acqua per inoculo con PLURONIC. La concentrazione finale nei pozzetti dovrebbe essere pari a $3\text{--}7 \times 10^5$ CFU/mL. Per garantire la vitalità e la purezza dell'organismo in esame, preparare una piastra di purezza strisciando l'inoculo su una piastra di agar idonea e incubando alle giuste condizioni. Se sulla piastra di purezza sono presenti due o più tipi di colonie, isolare nuovamente le colonie e ripetere il test.

**3M, St. Paul, MN USA

Copertura dei substrati con olio minerale

1. Utilizzare un flacone contagocce per ricoprire i pozzetti GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN e DCB con 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: i sistemi WalkAway (e i sistemi WalkAway aggiornati con la funzione di copertura automatica con olio) aggiungono automaticamente l'olio nei pozzetti appropriati.

Striscia sigillante

Solo per gli organismi gram-negativi positivi all'ossidasi, posizionare una striscia sigillante sui pozzetti CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B e DCB. Il foro di posizione da un quarto di pollice nel nastro deve essere allineato al pozzetto DCB. Per i sistemi WalkAway, viene utilizzato il coperchio in sostituzione della striscia sigillante.

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 almeno 16 ore a 35 °C in un incubatore non a CO₂.

Lettura dei pannelli

È possibile leggere manualmente i pannelli e registrare i risultati su un foglio di lavoro per pannelli manuali oppure utilizzando la strumentazione MicroScan (sistemi autoSCAN-4 e WalkAway). Per informazioni sulla lettura dei pannelli con la strumentazione MicroScan, consultare la Guida per l'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 crescita è torbido. Non leggere il pannello se il pozzetto di controllo è torbido o se non è presente crescita nel pozzetto di crescita. 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 o assente è definita da un lieve alone biancastro nel pozzetto o dal brodo trasparente.
4. Se i risultati vengono letti visivamente, registrarli sul foglio di lavoro appropriato.
5. **Lettura dei substrati di identificazione**
 - A. Leggere tutti i substrati di identificazione con uno sfondo bianco tranne per CET e gli antimicrobici utilizzati per l'identificazione (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) che devono essere letti su uno sfondo nero (illuminato indirettamente).
 - B. I seguenti substrati, vengono sempre letti a 16–24 ore: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
 - C. Se qualcuna delle seguenti condizioni è vera:
 - a. GLU o SUC o SOR positivo o
 - b. ARG positivo e OF/G positivo o
 - c. ARG positivo e CET positivo o
 - d. LYS positivo o
 - e. ORN positivo o
 - f. OXI negativo e OF/G positivo e Fd₆₄ positivo e MAL positivo.

In tal caso, aggiungere i reagenti e leggere i substrati restanti a 16–24 ore di incubazione. Se nessuna delle condizioni precedenti si verifica, reincubare i pannelli per altre 24 ore prima di aggiungere i reagenti e procedere alla lettura dei substrati restanti.

- D. Se, dopo reincubazione, l'organismo appare ancora non-reattivo, verificare l'eventuale avvenuta crescita dell'organismo nei carboidrati con rosso fenolo (particolarmente in condizioni di crescita scarsa o nulla nel controllo di crescita con brodo Mueller-Hinton). Se non è presente crescita nei carboidrati con rosso fenolo, è plausibile sospettare la presenza di un organismo esigente quale una specie di *Vibrio* alofilo. È necessario riprodurre una colorazione Gram per confermare che è gram-negativo.
 - a. Nel caso si sospetti una patologia clinicamente significativa dovuta a una specie di *Vibrio* alofilo, ritestare emulsionando alcune colonie in 3,0 mL di soluzione sterile salina allo 0,85% ed eseguire test aggiuntivi, inclusa la crescita in soluzione salina, come suggerito dal software. La torbidità finale deve essere

equivalente a uno standard di torbidità 0,5 McFarland. È possibile ottenere una torbidità equivalente utilizzando un turbidimetro MicroScan con un intervallo di $0,08 \pm 0,02$. Reidratare il pannello con 25 mL di acqua per inoculo con PLURONIC non inoculata utilizzando un sistema RENOK. Mediante una pipetta di trasferimento sterile, aggiungere una goccia (45–50 μL) della sospensione in soluzione salina a ognuno dei pozzetti di identificazione tra cui i pozzetti di crescita Cl_4 , Cf_6 , To_4 , P_4 , K_4 e Fd_{64} . È necessario seguire tutti i passaggi di elaborazione del pannello.

E. Prima della lettura, aggiungere i seguenti reagenti:

- Aggiungere 1 goccia di idrossido di potassio al 40% (KOH) e 1 goccia di Alfa-Naftolo al 5% nel pozzetto VP. Attendere almeno 20 minuti per lo sviluppo della reazione VP.
- Aggiungere 1 goccia di cloruro ferrico al 10% al pozzetto TDA. Il colore si svilupperà immediatamente.
- Aggiungere 3 gocce di reagente di Kovacs MicroScan al pozzetto IND. Il colore si svilupperà immediatamente.
NOTA: il reagente di Kovacs di MicroScan è una formula speciale progettata per l'uso con la strumentazione MicroScan. Se i pannelli vengono letti manualmente è necessaria solo una goccia.
- Aggiungere 1 goccia di acido sulfanilico allo 0,8% quindi 1 goccia di N,N-Dimetil-alfa naftilamina allo 0,5% nel pozzetto NIT. Attendere almeno 5 minuti prima delle letture affinché la reazione NIT si sviluppi.

F. Per ulteriori informazioni sull'interpretazione biochimica, consultare la sezione Risultati.

RISULTATI

1. Interpretazioni biochimiche

Pozzetto	Reagente	Positivo	Negativo
GLU		Solo giallo carico	Da arancione a rosso
		Alcuni non-fermentanti possono produrre un colore dorato da considerare come negativo.	
SUC		Da giallo a giallo/arancione	Da arancione a rosso
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Da magenta a rosa	Giallo, arancione o rosa chiaro
H ₂ S		Precipitato nero o bottone nero	Nessun annerimento
IND	Aggiungere 3 gocce (o una goccia se il pannello viene letto manualmente) di reagente di Kovacs MicroScan. Il colore si sviluppa immediatamente.	Da rosa a rosso	Da giallo pallido ad arancione
		<i>Providencia</i> sp. può produrre un anello di un colore rosa pallido da considerare come positivo.	
Confrontare LYS, ARG e ORN con DCB. Questi pozzetti devono essere ricoperti con olio affinché i risultati siano validi. Il viola viene considerato positivo se confrontato a un pozzetto DCB grigio. Il grigio viene considerato positivo se confrontato a un pozzetto DCB giallo. Per i non fermentanti, un test positivo deve essere di un colore porpora decisamente più intenso rispetto al controllo di base. Se il controllo di base è porpora, il terreno contenuto è stato alcalinizzato e LYS, ARG e ORN devono essere tutti registrati come negativi. Le specie di <i>Achromobacter</i> e <i>Ochrobactrum anthropi</i> tendono a comportarsi in questo modo.			
LYS		Da porpora a grigio	Fermentanti: Giallo
ARG			Non-fermentanti: Da incolore a grigio
ORN			
TDA	Aggiungere 1 goccia di cloruro ferrico al 10%. Il colore si sviluppa immediatamente.	Tutte le sfumature di marrone	Da giallo ad arancione
ESC		Da marrone chiaro a nero	Da beige a incolore

Pozzetto	Reagente	Positivo	Negativo
VP	Aggiungere 1 goccia di KOH al 40% e 1 goccia di alfa-naftolo al 5%. Attendere almeno 20 minuti per lo sviluppo della reazione.	Rosso	Incolore
		Alcuni non-fermentanti possono produrre un colore rosa pallido dopo 18 ore di incubazione, da considerare come negativo.	
ONPG		Giallo	Incolore
		Confrontare ogni pozzetto ONPG che appaia trasparente con il pozzetto di cetrimide. Se l'ONPG evidenzia una sfumatura gialla rispetto al pozzetto di cetrimide, registrare come positivo.	
CIT		Da blu a blu-verde	Da verde a giallo
MAL		Ogni sfumatura di blu è da considerare come positiva	
TAR			
ACE			
CET		Crescita	Assenza di crescita
OF/G		Giallo	Se la base OF è verde: Da verde a blu
		Da giallo a verde	Se la base OF è da blu a blu-verde: Blu
		Confrontare il pozzetto OF/G con il controllo base OF.	
NIT	Aggiungere 1 goccia di acido sulfanilico allo 0,8% quindi 1 goccia di N,N-Dimetil-alfa naftilamina allo 0,5%. Attendere almeno 5 minuti per lo sviluppo della reazione.	Rosso	Da incolore a rosa pallido
P ₄		Crescita (resistente)	Nessuna crescita (sensibile)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Solo per il riconoscimento dei pannelli nei sistemi autoSCAN-4 e WalkAway.		

2. Principi delle reazioni di identificazione

Fermentazione dei carboidrati (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): la fermentazione di un carboidrato specifico porta alla formazione di acido e a una riduzione del pH rilevata mediante un 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.

Solfuro di idrogeno (H₂S): dal tiosolfato di sodio viene prodotto gas di solfuro di idrogeno, che reagisce con gli ioni ferrici presenti nel mezzo producendo un precipitato di colore nero.

Indolo (IND): il metabolismo del triptofano porta alla formazione di indolo, che viene rilevato dall'aggiunta del reagente di Kovac. Se è presente indolo si sviluppa una colorazione rossa.

Lisina, arginina, ornitina (LYS, ARG, ORN): la decarbossilazione di questi amminoacidi porta alla formazione di ammine basiche che vengono rilevate dall'indicatore porpora di bromocresolo.

Triptofano deaminasi (TDA): i batteri in grado di deaminare il triptofano producono acido indolepiruvico, che reagisce con il citrato ferrico di ammonio nel mezzo dopo l'aggiunta di cloruro ferrico producendo un colore marrone.

Idrolisi dell'esculina (ESC): l'idrolisi dell'esculina viene rilevata dal citrato ferrico di ammonio nel terreno, che reagisce con i prodotti idrolitici formando un precipitato nero.

Voges-Proskauer (VP): l'acetoina viene prodotta dal piruvato di sodio ed è indicata dalla formazione di una colorazione rossa dopo l'aggiunta di idrossido di potassio 40% e alfa-naftolo 5%.

Galattosidasi (ONPG): la β-galattosidasi idrolizza l'orto-nitrofenil-β-D-galattopiranoside, che libera orto-nitrofenolo di colore giallo.

Citrato, malonato, acetamide, tartrato (CIT, MAL, ACE, TAR): l'utilizzo di questi substrati come unica fonte di carbonio per il metabolismo porta a un aumento del pH rilevato mediante un indicatore blu di bromotimolo.

Ossidazione-fermentazione (OF/G): l'ossidazione del glucosio porta alla formazione di acido e a una riduzione del pH rilevata mediante un indicatore blu di bromotimolo. Per determinare se è stato prodotto un acido, si confronta OF/G con OF/B (base).

Nitrato (NIT): la capacità di un organismo di ridurre il nitrato in nitrito viene rilevata dall'aggiunta di N,N-dimetil-alfa-naftilamina e acido solfanilico, che producono un colore rosso in presenza di nitrito.

Cetrimide (CET): la tolleranza alla cetrimide è dimostrata dalla crescita in brodo Mueller-Hinton arricchito con cetrimide.

Penicillina, kanamicina, colistina, cefalotina, nitrofurantoina, tobramicina (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): la resistenza a concentrazioni specifiche di questi agenti antimicrobici è dimostrata dalla crescita.

3. Identificazione del microrganismo

La funzionalità Biotype Lookup Program presente nel sistema di gestione delle informazioni LabPro e sul sito web di Beckman Coulter viene utilizzata per l'identificazione degli organismi di test sconosciuti. Il programma identifica gli organismi e le relative probabilità, in ordine decrescente di probabilità, fino a un totale cumulativo del 99,9%.

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

LIMITI DEL METODO

1. *Haemophilus* e altri batteri gram-negativi esigenti non crescono nel brodo Mueller-Hinton non integrato con fattori di arricchimento per la crescita.
2. Le procedure qui descritte sono adatte esclusivamente per i bacilli gram-negativi aerobi e anaerobi facoltativi.
3. Quando si ottiene una bassa probabilità di identificazione (<85%) possono essere necessari altri test per ottenere l'identificazione finale (consultare MicroScan Biotype Lookup Program o Microbiology Manual).
4. 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 organismo.
5. I numeri di biotipo non devono essere utilizzati per l'identificazione del fenotipo di ceppi isolati da vari campioni dello stesso paziente.
6. Segnalare alle autorità sanitarie tutti gli isolati presumibilmente identificati come *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* o *F. tularensis*. La conferma degli isolati di questi batteri potrebbe richiedere test specializzati disponibili solo nei laboratori di pubblica sanità o di riferimento.

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).*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Blu, blu-verde, verde	Blu, blu-verde	Blu, blu-verde, verde	Blu, blu-verde, verde
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Da grigio a giallo	Da grigio a giallo-grigio	Giallo	N/D
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	N/D
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	N/D
To ₄ ²	-	-	-	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. *P. aeruginosa* ATCC 27853 può produrre un anello rosa pallido in VP dopo 18 ore di incubazione, da interpretare come negativo.

4. È possibile ottenere una debole reazione positiva con *E. coli* ATCC 25922 se i pannelli vengono incubati per un tempo superiore alle 18 ore.

5. Può richiedere un'incubazione di 48 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 nella tabella 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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotidis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Identificazione gram negativi disidratati - QC ID ottimizzato ¹					
Organismo QC	Numero ATCC	Substrato indicatore chiave	Risultato atteso	Risultato esterno alle specifiche	Substrato labile
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Si
<i>E. coli</i>	25922	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.⁴ 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.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Le prestazioni del pannello di identificazione dei gram-negativi disidratati MicroScan sono state determinate attraverso 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 negativo disidratato tipo 2 e metodologie convenzionali in provetta. Vedere la sezione Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli (Pannelli disidratati Neg (convenzionali): Bacilli aerobici gram-negativi) di Microbiology Information Manual (Manuale informativo sulla microbiologia) per un elenco completo degli organismi inclusi nel database.

Concordanza percentuale con il metodo di riferimento

N. testato	N. di identificazioni corrette	% di identificazioni corrette
609	593	97,4

RIPRODUCIBILITÀ

La riproducibilità viene stabilita testando più repliche in condizioni diverse (ad es. lotti di pannelli, giorni, strumenti, utenti). Possono essere inclusi anche i ceppi QC, gli isolati clinici o entrambi. La corrispondenza complessiva si è attestata su $\geq 95\%$.

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.

NOTA PER L'UTENTE

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione ai pannelli MicroScan deve essere segnalato a Beckman Coulter e all'autorità competente dello Stato membro in cui si trova l'utente e/o il paziente.

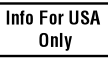
CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE	DATA	DESCRIZIONE
AA	Maggio 2022	Pubblicazione iniziale
AB	Dicembre 2022	Aggiornamenti: Riproducibilità

Legenda dei simboli

I seguenti simboli possono essere presenti sulle etichette dei prodotti per microbiologia di Beckman Coulter.

Legenda dei 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, disposizione 5.4.2
	Data di scadenza	Indica la data oltre la quale non è più possibile utilizzare l'apparecchiatura medica.	ISO 15223-1, disposizione 5.1.4
	Codice batch	Indica il codice lotto del produttore per la corretta identificazione del batch o del lotto.	ISO 15223-1, disposizione 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, disposizione 5.1.3

Legenda dei simboli			
Simbolo	Titolo del simbolo	Descrizione dello standard	Standard
	Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea	Indica il rappresentante autorizzato per la Comunità Europea.	ISO 15223-1, disposizione 5.1.2
	Contenuto sufficiente per <n> test	Indica il numero totale di test IVD che possono essere eseguiti con IVD. (In genere incluso nei kit reagenti).	ISO 15223-1, disposizione 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, disposizione 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, disposizione 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, disposizione 5.3.1
	Lato verso l'alto	Indica la direzione della posizione corretta	ISO 7000: 0623
	Informazioni valide solo per gli Stati Uniti	Indica informazioni richieste solo per i prodotti da commercializzare negli Stati Uniti.	N/D
	Solo su prescrizione medica	Riconosciuto dalla FDA negli USA come un avviso alternativo ad "Attenzione: la legge federale limita la vendita di questo dispositivo ai medici o dietro presentazione di prescrizione medica"	21CFR 801.109(b)(1)
	Rischi biologici	Indica che sono presenti potenziali rischi biologici associati al dispositivo medico. Nota: questo simbolo non deve essere confuso con il cartello di "rischio biologico" da utilizzare nel luogo di lavoro.	ISO 15223-1, disposizione 5.4.1
	Pericolo	N/D	N/D

ISO 15223-1: Medical devices - Symbols to be used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Apparecchiature medicali - Simboli da utilizzare con etichette dei dispositivi medicali e informazioni da fornire. Parte 1: Requisiti generali).

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

MicroScan

Manual de procedimiento para gramnegativos ID2, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

USO PREVISTO

El de panel de ID Neg tipo 2 de MicroScan es un producto sanitario de diagnóstico *in vitro* diseñado para la determinación cualitativa de la identificación a nivel de especie de bacilos gramnegativos anaerobios facultativos y aerobios de colonias aisladas. Los métodos para la incubación y la determinación de resultados incluyen la automatización completa en los instrumentos WalkAway o la incubación fuera de línea no automatizada con lectura en los instrumentos autoSCAN-4 o lectura manual con la opción de introducir resultados en el sistema de gestión de datos LabPro.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

RESUMEN Y PRINCIPIOS

Una vez que los paneles se han inoculado y rehidratado con una suspensión estandarizada del microorganismo, se incuban durante un período mínimo de 16 horas a 35 °C. Se utilizan pruebas convencionales y cromogénicas modificadas para la identificación de bacilos gramnegativos fermentadores y no fermentadores. La identificación se basa en la detección de cambios de pH, la utilización del sustrato y el crecimiento en presencia de agentes antimicrobianos después de 16-42 horas de incubación a 35 °C.¹

Panel tipo 2 de identificación de gramnegativos			
Sustratos	Abrev.	Sustratos	Abrev.
Glucosa	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sacarosa	SUC	Citrato	CIT
Sorbita	SOR	Malonato	MAL
Rafinosa	RAF	o-nitrofenil-β-D-galactopiranosida	ONPG
Ramnosa	RHA	Tartrato	TAR
Arabinosa	ARA	Acetamida	ACE
Inositol	INO	Cetrimida	CET
Adonitol	ADO	Glucosa OF	OF/G
Melibiosia	MEL	OF base	OF/B
Urea	URE	Decarboxilasa base	DCB
Sulfhídrico	H ₂ S	Nitrato	NIT
Indol	IND	Penicilina G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lisina	LYS	Kanamicina 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginina	ARG	Colistina 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornitina	ORN	Nitrofurantoina 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Triptófano deaminasa	TDA	Cefalotina 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Esculina	ESC	Tobramicina 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Antibiótico usado para la identificación.

IMPORTANCIA CLÍNICA

Los resultados de las pruebas de identificación se utilizan junto con otros resultados de laboratorio e indicadores clínicos para ajustar la terapia en pacientes sintomáticos.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Sólo para uso en 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. Exclusivamente de un solo uso. Todos los paneles y consumibles de MicroScan no deben reutilizarse a menos que se indique lo contrario (por ejemplo, las bandejas de cubierta).
6. Este producto contiene materiales de origen animal obtenidos a partir de medios de cultivo microbiológicos deshidratados. Consulte las directrices sobre seguridad general para obtener protección al manipular este producto.

ALMACENAMIENTO

Los paneles gramnegativos deshidratados deben conservarse a una temperatura de 2-25 °C.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico



La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

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 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)*.²

MATERIALES SUMINISTRADOS

Paneles tipo 2 de identificación de gramnegativos (B1017-27)

Manual de procedimiento y control de calidad

MATERIALES NECESARIOS, NO SUMINISTRADOS CON EL KIT

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

Cloruro férrico al 10 %, 30 mL (B1010-48A) o 250 mL (B1015-48)

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

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

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

Estándar de turbidez de McFarland 0,5

Pipeta de 100 µL

Etiquetas de código de barras (B1018-129)

Paneles cubridores (B1010-56B)

Equipo general de laboratorio

Reactivo de Kovacs, 30 mL (B1010-41A) o 250 mL (B1015-41)

Hojas de trabajo para paneles manuales (se utilizan para registrar los resultados leídos manualmente)

Visor de microdilución

Aceite mineral, 60 mL (B1010-40)

Aceite mineral, 250 mL (B1010-40A)

Reactivo de oxidasa

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

Formularios para informes de control de calidad

Kit cuentagotas de reactivos (B1013-12A)

Rehidratador/Inoculador RENOK (B1018-14) o equivalente

Turbidímetro

Vórtex

MATERIALES DE UN SOLO USO

Solución salina al 0,85 % esterilizada en autoclave, 3 mL

Puntas de pipeta estériles desechables

Juego de Inoculators-D (B1013-4)

Agua para inóculo, 3 mL (B1015-2)

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

*Surfactantes PLURONIC®. Marca comercial registrada de BASF Corporation, Parsippany, NJ, USA.

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

Tiras de sellado (B1010-51)

Tapas para las bandejas WalkAway (B1018-18)

PROCEDIMIENTO

Preparación del panel

1. Extraiga los paneles que se van a utilizar del lugar en el que se conservan. No los utilice si se ve alterada la integridad del envase (si no está sellado, o si está perforado o desgarrado).
2. Corte la bolsa para abrirla y retire el panel. Si estaba almacenado en el refrigerador, extraer inmediatamente el panel de la bolsa de aluminio.
3. **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 decolorados (p. ej., DCB, distintos antibióticos).
4. 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.

Preparación del inóculo

El CLSI recomienda revisar periódicamente las densidades de inóculo haciendo recuentos de las colonias. Consulte las recomendaciones sobre el recuento de colonias en el documento M07, 11.^a edición del CLSI. Los resultados esperados para *E. coli* ATCC 25922 deben aproximarse bastante al valor de 5×10^5 CFU/mL para las concentraciones finales de la prueba.³ 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 cuando el inóculo se prepare sin la ayuda de un dispositivo fotométrico.

1. Técnica estándar de turbidez: método de inóculo principal

Se recomienda la técnica estándar de turbidez para la inoculación directa de todos los bacilos gramnegativos 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).
- C. Tape bien y agite en vórtex la suspensión durante 2-3 segundos.
- D. La turbidez final debe ser equivalente al estándar de turbidez de McFarland 0,5. Puede conseguirse una turbidez equivalente utilizando un turbidímetro de MicroScan con un intervalo de $0,08 \pm 0,02$.
- E. Pipetear 0,1 mL (100 µL) 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 se puede utilizar para inocular bacilos gramnegativos. 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 provocar resultados incorrectos en las pruebas de sensibilidad e identificación.

Prueba de la oxidasa

Realice la prueba de la oxidasa antes de inocular los paneles. Registre los resultados en el espacio correspondiente en la hoja de trabajo o según lo requiera la instrumentación. Los resultados de la oxidasa respaldan la separación de los taxones y la notificación temprana de los no fermentadores (p. ej., el complejo *Acinetobacter baumannii*). Para los sistemas WalkAway se recomienda introducir los resultados de la oxidasa antes de imprimir los códigos de barras. Algunos microorganismos no fermentadores se pueden mantener hasta las 42 horas en función del crecimiento. El reactivo de oxidasa recomendado es diclorhidrato de tetrametil-p-fenilendiamina.

Rehidratación e inoculación del panel

La rehidratación e inoculación se realizan con el sistema RENOK con Inoculators-D (B1013-4). Consulte el RENOK Operator's Manual (Manual del operador de RENOK) para obtener instrucciones de uso. Si se utilizan sistemas alternativos, rehidrate con $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ de agua para inóculo con PLURONIC. Se debe obtener una concentración final en el pocillo de $3-7 \times 10^5$ CFU/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.

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

Recubrimiento de pruebas bioquímicas

1. Utilice una botella cuentagotas para añadir a los pocillos de GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN y DCB 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 sistemas WalkAway (y los sistemas WalkAway actualizados con la función de adición de aceite automatizada) añaden automáticamente aceite a los pocillos adecuados.

Tira de sellado

Solo para microorganismos gramnegativos con oxidasa positiva, coloque una tira de sellado sobre los pocillos de CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B y DCB. El orificio de localización de un cuarto de pulgada de la cinta debe estar alineado sobre el pocillo de DCB. En los sistemas WalkAway, se utiliza la tapa en lugar de una tira de sellado.

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. Incube los paneles como mínimo durante 16 horas a 35 °C en un incubador sin CO₂.

Lectura de los paneles

Los paneles se pueden leer manualmente y se pueden registrar los resultados en una hoja de trabajo para paneles manuales o en los instrumentos MicroScan (sistemas autoSCAN-4 y WalkAway). Consulte el manual del operador correspondiente para leer los paneles con la instrumentación de 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. Lea los paneles únicamente si el pocillo de control es transparente y el pocillo de crecimiento es turbio. No lea el panel si el pocillo de control está turbio o no hay crecimiento en el pocillo de crecimiento. 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. Si el crecimiento es inapropiado o no hay crecimiento, el pocillo presentará un color blanquecino o el caldo será transparente.
4. Si los resultados se leen manualmente, registre los resultados en la hoja de trabajo apropiada.

5. Lectura de sustratos de identificación

- A. Lea todos los sustratos de identificación con un fondo blanco a excepción de CET y los antimicrobianos utilizados para identificación (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) que se deben leer con un fondo negro (iluminado indirectamente).
- B. Los siguientes sustratos se leen siempre a las 16-24 horas: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Si cualquiera de las siguientes situaciones es verdadera:
 - a. GLU o SUC o SOR positivo, o
 - b. ARG positivo y OF/G positivo, o
 - c. ARG positivo y CET positivo, o
 - d. LYS positivo, o
 - e. ORN positivo, o
 - f. OXI negativo y OF/G positivo y Fd₆₄ positivo y MAL positivo.

A continuación, añada reactivos y lea el resto de los sustratos después de 16-24 horas de incubación. Si no se cumple ninguna de las condiciones anteriores, vuelva a incubar los paneles otras 24 horas antes de añadir reactivos y leer el resto de los sustratos.

- D. Si, después de la reincubación, el microorganismo sigue sin presentar reacciones, compruebe que dicho microorganismo ha crecido en los carbohidratos con indicador rojo de fenol (especialmente si el crecimiento es limitado o nulo en el control de crecimiento Mueller-Hinton). Si el crecimiento es nulo en los carbohidratos con indicador rojo de fenol, debe sospecharse la existencia de un microorganismo de cultivo exigente, como las especies de *Vibrio* halofílico. Se debe repetir una tinción de Gram para confirmar que es gramnegativo.

- a. Si se sospecha de la existencia de una enfermedad de importancia clínica debido a un microorganismo *Vibrio* halofílico, repita la prueba emulsionando varias colonias en 3,0 mL de solución salina estéril al 0,85 % y realice también pruebas adicionales, incluido el crecimiento en sal, según recomiende el software. La turbidez final debe ser equivalente a la de un patrón de turbidez McFarland 0,5. Se puede conseguir una turbidez equivalente utilizando un turbidímetro MicroScan con un intervalo de $0,08 \pm 0,02$. Vuelva a hidratar el panel con 25 mL de agua para inóculo no inoculada con PLURONIC mediante un RENOK. Con una pipeta estéril, añada una gota (45-50 μ L) de la solución salina a cada uno de los pocillos de identificación, incluyendo los pocillos de crecimiento Cl_4 , Cf_8 , To_4 , P_4 , K_4 y Fd_{64} . Deben seguirse el resto de pasos de procesamiento del panel.

E. Antes de realizar la lectura, añada los reactivos de la siguiente manera:

- a. Añada 1 gota de hidróxido de potasio (KOH) al 40 % y 1 gota de alfa naftol al 5 % al pocillo de VP. Espere 20 minutos como mínimo para que se desarrolle la reacción de VP.
- b. Añada 1 gota de cloruro férrico al 10 % al pocillo de TDA. El color cambiará inmediatamente.
- c. Añada 3 gotas del reactivo de Kovacs de MicroScan al pocillo de IND. El color cambiará inmediatamente.
- NOTA:** El reactivo de Kovac de MicroScan es una fórmula especial diseñada para su uso con los instrumentos MicroScan. Solo se necesita una gota si los paneles se leen manualmente.
- d. Añada 1 gota de ácido sulfanílico al 0,8 % y, a continuación, 1 gota de N,N-dimetil-alfa-naftilamina al 0,5 % al pocillo de NIT. Antes de leer el resultado, espere al menos 5 minutos para que se desarrolle la reacción de NIT.

F. Consulte la sección RESULTADOS para obtener ayuda en la interpretación bioquímica.

RESULTADOS

1. Interpretaciones bioquímicas

Pocillo	Reactivo	Positivo	Negativo
GLU		Solo amarillo intenso	De naranja a rojo
Algunos no fermentadores pueden producir un color dorado que debe considerarse negativo.			
SUC		De amarillo a amarillo/naranja	De naranja a rojo
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		De magenta a rosa	Amarillo, naranja o rosa claro
H ₂ S		Precipitado negro o botón negro	No se ennegrece
IND	Añada 3 gotas (o una gota si el panel se lee visualmente) del reactivo de Kovac de MicroScan. El color se desarrolla inmediatamente.	De rosa a rojo	De amarillo claro a naranja
<i>Providencia</i> sp. puede producir un color rosa claro que debe considerarse positivo.			
Compare LYS, ARG y ORN con DCB. Estos pocillos deben recubrirse con aceite para que los resultados sean válidos. El color morado se considera positivo en la comparación con un pocillo de DCB gris. El color gris se considera positivo en la comparación con un pocillo de DCB amarillo. En el caso de los no fermentadores, una prueba positiva debe tener un tono morado bastante más intenso que el del control base. Si el control base es morado, se ha alcalinizado el medio base y los pocillos de LYS, ARG y ORN deben informarse como negativos. Las especies de <i>Achromobacter</i> y <i>Ochrobactrum anthropi</i> suelen ofrecer esos resultados.			
LYS		De morado a gris	Amarillo
ARG			
ORN		Morado	De incoloro a gris
TDA	Añada 1 gota de cloruro férrico al 10 %. El color se desarrolla inmediatamente.	Cualquier tono marrón	De amarillo a naranja
ESC		De marrón claro a negro	De beige a incoloro

Pocillo	Reactivo	Positivo	Negativo
VP	Añada 1 gota de KOH al 40 % y 1 gota de alfa naftol al 5 %. Espere 20 minutos como mínimo para que se desarrolle la reacción.	Rojo Algunos no fermentadores pueden producir un color rosa claro después de 18 horas de incubación, lo que debe considerarse negativo.	Incoloro
ONPG		Amarillo Compare cualquier pocillo de ONPG que tenga un color claro con el pocillo de cetrimida. Si el pocillo de ONPG muestra cualquier tono amarillo en comparación con el pocillo de cetrimida, notifíquelo como positivo.	Incoloro
CIT		De azul a azul verdoso Cualquier tono de azul se considera positivo	De verde a amarillo
MAL TAR ACE			
CET		Crecimiento	Sin crecimiento
OF/G		Amarillo De amarillo a verde Compare el pocillo de OF/G con el control de la OF base.	Si la OF base es verde: De verde a azul Si la OF base es entre azul y azul verdoso: Azul
NIT	Añada 1 gota de ácido sulfanílico al 0,8 % y, a continuación, 1 gota de N,N-dimetil-alfa-naftilamina al 0,5 %. Espere 5 minutos como mínimo para que se desarrolle la reacción.	Rojo	De incoloro a rosa claro
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Crecimiento (resistente)	No crecimiento (sensible)
LOC	Solo para el reconocimiento de paneles en los sistemas autoSCAN-4 y WalkAway.		

2. Principios de las reacciones de identificación

Fermentación de carbohidratos (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): la fermentación de un carbohidrato específico produce la formación de ácido y la disminución del pH, detectada por un 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.

Sulfuro de hidrógeno (H₂S): el gas de sulfuro de hidrógeno se produce a partir de tiosulfato de sodio y reacciona con iones férricos en el medio para producir un precipitado negro.

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

Lisina, arginina, ornitina (LYS, ARG, ORN): la decarboxilación de estos aminoácidos produce la formación de aminas básicas que se detectan mediante el indicador púrpura de bromocresol.

Triptófano desaminasa (TDA): las bacterias capaces de desaminar el triptófano producen ácido indolpirúvico, que reacciona con citrato férrico de amonio en el medio después de añadir cloruro férrico para obtener un color marrón.

Hidrólisis de esculina (ESC): la hidrólisis de la esculina se detecta mediante citrato férrico de amonio en el medio, que reacciona con los productos hidrolíticos para formar un precipitado negro.

Voges-Proskauer (VP): la acetoina se produce a partir de piruvato de sodio y se indica mediante la formación de un color rojo después de añadir hidróxido de potasio al 40 % y alfa naftol al 5 %.

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

Citrato, malonato, acetamida, tartrato (CIT, MAL, ACE, TAR): el uso de estos sustratos como fuente única de carbono para el metabolismo conlleva un aumento del pH, que se detecta mediante el indicador azul de bromotimol.

Oxidación-fermentación (OF/G): la oxidación de la glucosa produce la formación de ácido y una disminución del pH, que se detecta mediante un indicador azul de bromotimol. La OF/G se compara con la OF/B (base) para determinar si se ha producido algún ácido.

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

Cetrimida (CET): la tolerancia a la cetrimida se demuestra mediante el crecimiento en caldo Mueller-Hinton suplementado con cetrimida.

Penicilina, kanamicina, colistina, cefalotina, nitrofurantoína, tobramicina (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): la resistencia a determinadas concentraciones de estos antimicrobianos se muestra mediante el crecimiento.

3. Identificación de microorganismos

El Biotype Lookup Program del gestor de información LabPro y del sitio web de Beckman Coulter se utiliza para la identificación de microorganismos desconocidos sujetos a pruebas. El programa muestra la identificación del microorganismo y las probabilidades relativas, en el orden de la probabilidad mayor, hasta un total acumulado del 99,9 %.

Si un número de biotipo resulta ser un “Biotipo muy raro”, consulte el software LabPro, Utilities (Utilidades)>System (Sistema)>Biotype Lookup (Consulta de biotipos), o el Biotype Lookup Program del sitio web de Beckman Coulter, o póngase en contacto con su distribuidor o representante local de Beckman Coulter.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. *Haemophilus* y otras bacterias gramnegativas de cultivo exigente no crecerán en caldo Mueller-Hinton que no se haya suplementado con factores de enriquecimiento del crecimiento.
2. Los procedimientos descritos en este documento solo son adecuados para bacilos gramnegativos aerobios y anaerobios facultativos.
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 Biotype Lookup Program de MicroScan o el Microbiology Manual [Manual de microbiología]).
4. La interpretación de los resultados de la prueba requiere personal clínico capacitado que deberá utilizar su buen juicio, conocimientos y pruebas confirmatorias 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. Debe notificarse a los funcionarios de salud pública sobre todos los aislamientos presuntamente identificados como *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* o *F. tularensis*. Para confirmar los aislamientos de estas bacterias se podrían necesitar pruebas especializadas solo disponibles en laboratorios de referencia o de salud pública.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Azul, azul verdoso, verde	Azul, azul verdoso	Azul, azul verdoso, verde	Azul, azul verdoso, verde
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	De gris a amarillo	De gris a amarillo-gris	Amarillo	NA
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	NA
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₂ ²	V	+	V	NA
To ₄ ²	-	-	-	NA

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

2. Consulte la tabla de pruebas adicionales para ver otras reacciones positivas o negativas, según sea necesario para cada reacción bioquímica.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 puede producir un color rosa claro en VP después de 18 horas de incubación, lo que se debe interpretar como negativo.

4. Puede producirse una reacción positiva débil con *E. coli* ATCC 25922 si se incuban los paneles durante más de 18 horas.

5. Puede necesitar 48 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 aquella indicada en el gráfico de CC (control de calidad). 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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotidis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

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

Identificación de gramnegativos deshidratados: CC ID simplificado ¹					
Microorganismo de CC	Número ATCC	Sustrato indicador clave	Resultado esperado	Resultado fuera de las especificaciones	Sustrato lábil
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Si
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Si

1. Los indicadores clave para el control de calidad se proporcionan para el CC simplificado según el documento M50-A de CLSI.⁴ 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.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Las afirmaciones de rendimiento para el panel deshidratado de identificación de gramnegativos de MicroScan se establecieron en un estudio realizado en diversos centros. Se analizaron aislamientos clínicos y cepas de referencia en el panel tipo 2 de identificación de gramnegativos deshidratados y en metodologías de tubos convencionales para representar el tipo de población bacteriana esperada en un laboratorio clínico de rutina. Consulte los paneles negativos (convencionales) deshidratados, sección de bacilos gramnegativos aerobios del manual de información microbiológica para obtener una lista completa de los microorganismos incluidos en la base de datos.

Concordancia porcentual con el método de referencia

N.º pruebas	N.º de identificaciones correctas	% de identificación correcta
609	593	97,4

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad se establece mediante el análisis de varios duplicados en diferentes condiciones (p. ej., lotes de paneles, días, instrumentos, usuarios). Esto puede incluir cepas de CC, aislados clínicos o ambos. La concordancia global fue $\geq 95\%$.

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.

AVISO AL USUARIO

Cualquier incidente grave relacionado con los paneles MicroScan se deberá notificar a Beckman Coulter y a la autoridad competente del Estado miembro en el que residen el usuario o el paciente.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN
AA	Mayo de 2022	Lanzamiento inicial
AB	Diciembre de 2022	Actualizado: Reproducibilidad

Lista de símbolos

Los siguientes símbolos se pueden utilizar en el etiquetado de los productos de microbiología de Beckman Coulter.

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, cláusula 5.4.2
	Fecha de caducidad	Indica la fecha tras la cual no se debe utilizar el dispositivo médico.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.4
	Código de lote	Indica el código de lote del fabricante para identificar el lote.	ISO 15223-1, cláusula 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, cláusula 5.1.3
	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, cláusula 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, cláusula 5.3.7
	Consulte las instrucciones de uso	Indica la necesidad de que el usuario consulte las instrucciones de uso.	ISO 15223-1, cláusula 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, cláusula 5.3.1
	Hacia arriba	Indica la correcta posición vertical	ISO 7000: 0623
	Información para EE. UU. únicamente	Indica la información que se requiere únicamente para productos destinados a su venta en EE. UU.	NA
	Solamente para su uso con receta	Reconocido por la FDA de EE. UU. como alternativa a «Precaución: Las leyes federales de los Estados Unidos restringen la venta de este dispositivo a un médico autorizado o bajo su prescripción»	21CFR 801.109(b)(1)
	Riesgos biológicos	Indica que existen posibles riesgos biológicos asociados al producto sanitario. Nota: Este símbolo no debe confundirse con la indicación de "riesgo biológico" que se destina al uso en el lugar de trabajo.	ISO 15223-1, cláusula 5.4.1
	Peligro	NA	NA

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

Manual de procedimentos do painel de ID de Gram-negativos do tipo 2, LabPro ≥V5.0

REF B1017-27

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O Painel de ID de neg MicroScan Tipo 2 é um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* destinado à determinação qualitativa da identificação ao nível da espécie de bacilos gram-negativos anaeróbicos facultativos e aeróbicos de crescimento rápido de colónias isoladas. Os métodos para a incubação e determinação de resultados incluem automação total em instrumentos WalkAway ou incubação offline não automatizada, com leitura em instrumentos autoSCAN-4 ou leitura manual, com a opção de introduzir os resultados no sistema de gestão de dados LabPro.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

SUMÁRIO E PRINCÍPIO

Depois de os painéis serem inoculados e reidratados com uma suspensão padronizada do organismo, são incubados durante um mínimo de 16 horas a 35 °C. São utilizados testes convencionais modificados e cromogénicos para a identificação de bacilos Gram-negativos fermentativos e não fermentativos. A identificação baseia-se na deteção de alterações do pH, utilização do substrato e crescimento na presença de agentes antimicrobianos após 16–42 horas de incubação a 35 °C.¹

Painel ID Neg Tipo 2			
Substratos	Abrev.	Substratos	Abrev.
Glucose	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sacarose	SUC	Citrato	CIT
Sorbitol	SOR	Malonato	MAL
Rafinose	RAF	o-nitrofenil-β-D-galactopiranosido	ONPG
Ramnose	RHA	Tratarato	TAR
Arabinose	ARA	Acetamida	ACE
Inositol	INO	Cetrimida	CET
Adonitol	ADO	OF Glicose	OF/G
Melibiose	MEL	OF Base	OF/B
Ureia	URE	Base descarboxilase	DCB
Sulfito de hidrogénio	H ₂ S	Nitrato	NIT
Indol	IND	Penicilina G, 4 µg/mL ¹	P ₄
Lisina	LYS	Canamicina, 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginina	ARG	Colistina, 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornitina	ORN	Nitrofurantoína, 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Triptofano Desaminase	TDA	Cefalotina, 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Esculina	ESC	Tobramicina 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Agentes antimicrobianos utilizados para identificação.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

Os resultados dos testes de identificação são utilizados em conjunto com outros resultados laboratoriais e indicadores clínicos para refinar a terapia em pacientes sintomáticos.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Apenas para utilização em 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. Uma única utilização. Os consumíveis e painéis MicroScan não devem ser reutilizados, salvo indicação em contrário (por ex., tabuleiros de cobertura).
6. Este produto contém material(ais) de origem animal a partir de meios microbiológicos desidratados. Tenha em atenção as diretrizes gerais de segurança para proteção no manuseamento deste produto.

ARMAZENAMENTO

Os painéis de Gram-negativos desidratados devem 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 beckmancoulter.com/techdocs

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.

RECOLHA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras apropriadas devem ser colhidas, transportadas e colocadas em meios de isolamento primário, de acordo com os procedimentos recomendados no *Manual of Clinical Microbiology* (Manual de microbiologia clínica).²

MATERIAIS FORNECIDOS

ID de negativos tipo 2 (B1017-27)

Manual de procedimentos e de controlo de qualidade

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

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

Cloreto férrico a 10%, 30 mL (B1010-48A) ou 250 mL (B1015-48)

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

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

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

Padrão de turvação de 0,5 McFarland

Pipeta de 100 µL

Etiquetas com código de barras (B1018-129)

Tabuleiros de cobertura (B1010-56B)

Equipamento geral de laboratório

Reagente de Kovac, 30 mL (B1010-41A) ou 250 mL (B1015-41)

Folhas de trabalho para painel manual (utilizadas para registar os resultados lidos manualmente)

Visualizador de microdiluição

Óleo mineral, 60 mL (B1010-40)

Óleo mineral, 250 mL (B1010-40A)

Reagente de oxidase

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

Fichas para relatórios de controlo de qualidade

Kit doseador de reagente (B1013-12A)

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

Turbidímetro

Vórtex

MATERIAIS DE UTILIZAÇÃO ÚNICA

Solução salina autoclavada a 0,85%, 3 mL

Pontas de pipetas esterilizadas descartáveis

Conjunto Inoculadores-D (B1013-4)

Água para inóculo, 3 mL (B1015-2)

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

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

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

Tiras para selar (B1010-51)

Tampas de tabuleiro WalkAway (B1018-18)

PROCEDIMENTO

Preparação do painel

1. Retirar os painéis a utilizar do local de armazenamento. Não utilizar se a integridade da embalagem estiver comprometida (não selada, perfurada ou rasgada).
2. Abrir a bolsa e retirar o painel. Se estiver conservado no frigorífico, retirar imediatamente o painel da bolsa de folha de alumínio.
3. **Os painéis não deverão ser utilizados caso se verifique uma das seguintes condições:**
 - A. O dessecante está ausente ou quebrado.
 - B. Os poços do painel estão descolorados (por ex., DCB, vários antimicrobianos).
4. Permitir 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.

Preparação do inóculo

O CLSI recomenda examinar periodicamente as densidades do inóculo através da realização de contagens de colónias. Consulte as recomendações para contagem de colónias no documento M07, 11.^a ed., do CLSI. Os resultados esperados para *E. coli* ATCC 25922 devem ser muito aproximados de 5×10^5 UFC/mL para as concentrações de teste finais.³ O utilizador deve prestar especial atenção à preparação do inóculo, sobretudo com métodos manuais que dependem de técnicas como o sistema Prompt ou inóculo preparado sem a ajuda de um dispositivo fotométrico.

1. Técnica padrão de turvação — Método de inóculo primário

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

- 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).
- C. Coloque uma tampa bem ajustada e agite a suspensão em vórtex durante 2–3 segundos.
- D. A turvação final deve ser equivalente à de um padrão de turvação de 0,5 McFarland. Uma turvação equivalente pode ser conseguida usando um turbidímetro MicroScan num intervalo de $0,08 \pm 0,02$.
- E. Pipete 0,1 mL (100 µL) 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 inocular bacilos Gram-negativos. 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 incorretos do teste de suscetibilidade e de identificação.

Teste de oxidase

Efetuar um teste de oxidase antes de inocular os painéis. Registrar os resultados no espaço apropriado da folha de trabalho ou conforme solicitado pelos instrumentos. Os resultados de oxidase sustentam a separação de taxonomias e a apresentação precoce de resultados de não fermentadores (por ex., complexo *Acinetobacter baumannii*). Em sistemas WalkAway, recomenda-se que os resultados de oxidase sejam introduzidos antes de imprimir os códigos de barras. Alguns não fermentadores podem manter-se até 42 horas, dependendo do crescimento. O reagente de oxidase recomendado é o dicloridrato de tetrametil-p-fenilenodiamina.

Reidratação/inoculação do painel

A reidratação e a inoculação são efetuadas utilizando o sistema RENOK com Inoculators-D (B1013-4). Consulte o RENOK Operator's Manual (Manual do operador do RENOK) para obter as instruções de utilização. Se for utilizado um sistema alternativo, reidrate com $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ de água para inóculo com PLURONIC. Deve ser obtida uma concentração final de $3\text{--}7 \times 10^5$ UFC/mL no poço. Para assegurar a viabilidade e a pureza do organismo testado, deverá preparar-se uma placa

**3M, St. Paul, MN USA

de verificação da pureza por repicagem do inóculo numa placa de ágar adequada e incubar nas condições adequadas. Se existirem dois ou mais tipos de colónias na placa de verificação da pureza, volte a isolar as colónias e repita o teste.

Cobertura dos bioquímicos

1. Utilizar um frasco doseador para cobrir os poços GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN e DCB com 3 gotas de óleo mineral. Estes poços são evidenciados no painel.
2. Os meios nos poços têm que estar completamente cobertos com óleo mineral, mas este não deve transbordar dos poços.

NOTA: Os sistemas WalkAway (e os sistemas WalkAway atualizados com a funcionalidade de sobreposição automática com óleo) adicionam automaticamente óleo aos poços apropriados.

Tira para selar

Apenas no caso de organismos Gram-negativos positivos a oxidase, colocar uma tira para selar sobre os poços CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B e DCB. O orifício localizador de quarto de polegada da banda deve estar alinhado por cima do poço DCB. Nos sistemas WalkAway, a tampa é utilizada em vez de uma tira para selar.

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 descontaminar os tabuleiros de cobertura com álcool. Estes podem ser lavados com água e sabão. Enxaguar bem e deixar secar ao ar.
 - C. Incube os painéis durante, no mínimo, 16 horas a 35 °C numa incubadora sem CO₂.

Leitura dos painéis

Os painéis podem ser lidos manualmente e os resultados registados numa folha de trabalho de painel manual ou em instrumentos MicroScan (sistemas autoSCAN-4 e WalkAway). Consulte o Guia do operador para obter informações sobre a leitura de 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 o poço de crescimento apresentar turvação. Não proceder à leitura do painel se o poço de controlo apresentar turvação ou se não houver crescimento no poço de crescimento. 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 ou a ausência de crescimento manifestam-se como uma ligeira cor esbranquiçada no poço ou meio líquido límpido.
4. Se os resultados forem lidos manualmente, registre os resultados na folha de trabalho apropriada.

5. Leitura dos substratos de identificação

- A. Leia todos os substratos de identificação com um fundo branco, exceto para CET e os agentes antimicrobianos utilizados para a identificação (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), que devem ser lidos contra um fundo preto (com luz indireta).
- B. Os seguintes substratos são sempre lidos ao fim de 16–24 horas: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Se qualquer uma das seguintes for verdadeira:
 - a. Positivo para GLU, SUC ou SOR ou
 - b. Positivo para ARG e positivo para OF/G ou
 - c. Positivo para ARG e positivo para CET ou
 - d. Positivo para LYS ou
 - e. Positivo para ORN ou
 - f. Negativo para OXI e positivo para OF/G e positivo para Fd₆₄ e positivo para MAL.

Nesse caso, adicionar reagentes e ler os substratos restantes após 16–24 horas de incubação. Se nenhuma das condições acima se verificar, voltar a incubar os painéis durante um período adicional de 24 horas antes de adicionar reagentes e ler os substratos restantes.

- D. Se, após a reincubação, o organismo ainda se apresentar não reativo, certifique-se de que houve crescimento do organismo nos hidratos de carbono do fenol vermelho (especialmente se existir um crescimento fraco ou nulo no controlo de crescimento de Mueller-Hinton). Se não houver crescimento nos hidratos de carbono do fenol

vermelho, deve suspeitar-se de um organismo fastidioso, tal como uma espécie de *Vibrio* halofílico. Deve ser repetido um teste de reação à coloração Gram para confirmar que é Gram-negativo.

- a. Em caso de suspeita de doença clinicamente significativa devida a uma espécie de *Vibrio* halofílico, volte a testar através da emulsão de várias colónias em 3,0 mL de solução salina esterilizada a 0,85% e efetue testes adicionais, incluindo crescimento em sal, conforme recomendado pelo software. A turvação final deve ser equivalente à de um padrão de turvação de 0,5 McFarland. Uma turvação equivalente pode ser conseguida utilizando um turbidímetro MicroScan num intervalo de $0,08 \pm 0,02$. Reidrate o painel com 25 mL de água para inóculo não inoculada com PLURONIC utilizando um RENOK. Utilizando uma pipeta de transferência esterilizada, adicione uma gota (45–50 μ L) da suspensão salina a cada poço de identificação, incluindo os poços de crescimento Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ e Fd₆₄. Todos os restantes passos de processamento do painel devem ser seguidos.

E. Antes de efetuar a leitura, adicione os reagentes do seguinte modo:

- a. Adicione 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 para a reação se desenvolver no VP.
- b. Adicionar 1 gota de cloreto férrico a 10% ao poço TDA. A cor é revelada imediatamente.
- c. Adicione 3 gotas do reagente de Kovac da MicroScan ao poço IND. A cor é revelada imediatamente.
NOTA: o reagente de Kovac da MicroScan é uma fórmula especial concebida para utilização com os instrumentos MicroScan. É necessária apenas uma gota se os painéis forem lidos manualmente.
- d. Adicione 1 gota de ácido sulfanílico a 0,8% e, em seguida, 1 gota de N, N-Dimetil-alfa-naftilamina a 0,5% ao poço NIT. Aguardar pelo menos 5 minutos antes da leitura pelo desenvolvimento da reação NIT.

F. Consultar a secção RESULTADOS para obter ajuda sobre a interpretação bioquímica.

RESULTADOS

1. Interpretações bioquímicas

Poço	Reagente	Positivo	Negativo
GLU		Apenas amarelo forte	Laranja a vermelho
Alguns não fermentadores podem produzir uma cor dourada que deve ser considerada como uma reação negativa.			
SUC		Amarelo a amarelo/laranja	Laranja a vermelho
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Magenta a rosa	Amarelo, laranja ou rosa-pálido
H ₂ S		Precipitado negro ou mancha circular negra	Sem coloração negra
IND	Adicione 3 gotas (ou uma gota se o painel for lido visualmente) de reagente de Kovac da MicroScan. A cor é revelada imediatamente.	Rosa a vermelho	Amarelo-pálido a laranja
<i>Providencia</i> sp. pode produzir um anel rosa-pálido que deve ser considerado positivo.			
Comparar LYS, ARG e ORN com DCB. Estes poços devem ser cobertos com óleo para que os resultados sejam válidos. Púrpura é considerado positivo quando comparado com um poço DCB cinzento. Cinzento é considerado positivo quando comparado com um poço DCB amarelo. Para os não fermentadores, um teste positivo deve ser significativamente mais púrpura que o controlo de base. Se o controlo de base for púrpura, o agente basal foi alcalinizado e LYS, ARG e ORN devem ser registados como negativos. Espécies <i>Achromobacter</i> e <i>Ochrobactrum anthropi</i> tendem a fazer isto.			
LYS		Púrpura a cinzento	Fermentadores: Amarelo
ARG			Não fermentadores:
ORN		Púrpura	Incolor a cinzento
TDA	Adicionar 1 gota de cloreto férrico a 10%. A cor é revelada imediatamente.	Qualquer tom de castanho	Amarelo a laranja
ESC		Castanho-claro a preto	Bege a incolor

Poço	Reagente	Positivo	Negativo
VP	Adicione 1 gota de KOH a 40% e 1 gota de alfa-naftol a 5%. Aguardar pelo menos 20 minutos para a reação se desenvolver.	Vermelho	Incolor
		Alguns não fermentadores podem produzir uma cor rosa-pálido após 18 horas de incubação que deve ser considerada negativa.	
ONPG		Amarelo	Incolor
		Comparar qualquer poço ONPG que apareça límpido com o poço com cetrímida. Se o ONPG apresentar qualquer coloração amarela comparado com o poço com cetrímida, registrar como positivo.	
CIT		Azul a azul-esverdeado	Verde a amarelo
MAL		Qualquer tom de azul é considerado positivo	
TAR			
ACE			
CET		Crescimento	Ausência de crescimento
OF/G		Amarelo	Se OF base for verde: Verde a azul
		Amarelo a verde	Se OF base for azul a azul-esverdeado: Azul
		Comparar poço OF/G com controlo de base OF.	
NIT	Adicione 1 gota de ácido sulfanílico a 0,8% e, em seguida, 1 gota de N, N-Dimetil-alfa-naftilamina a 0,5%. Aguardar pelo menos 5 minutos para a reação se desenvolver.	Vermelho	Incolor a rosa-pálido
P ₄		Crescimento (resistente)	Ausência de crescimento (suscetível)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Apenas para o reconhecimento de painéis por sistemas autoSCAN-4 e WalkAway.		

2. Princípios das reações de identificação

Fermentação de hidratos de carbono (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): a fermentação de um hidrato de carbono específico resulta na formação de ácido e uma descida de pH é detetada por um 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.

Sulfito de hidrogénio (H₂S): o gás sulfito de hidrogénio é produzido a partir do tiosulfato de sódio e reage com os iões de ferro no meio para produzir um precipitado preto.

Indol (IND): o metabolismo do triptofano resulta na formação de indol, que é detetado através da adição do reagente de Kovac. Na presença de indol, forma-se uma cor vermelha.

Lisina, arginina, ornitina (LYS, ARG, ORN): a descarboxilação destes aminoácidos resulta na formação de aminas básicas, que são detetadas pelo indicador púrpura de bromocresol.

Triptofano desaminase (TDA): as bactérias capazes de desaminar o triptofano produzem ácido indolpirúvico, que reage com o citrato de amónia férrico no meio após a adição de cloreto férrico para produzir uma cor castanha.

Hidrólise de esculina (ESC): a hidrólise de esculina é detetada pelo citrato de amónia férrico no meio, que reage com os produtos hidrolíticos para produzir um precipitado preto.

Voges-Proskauer (VP): a acetoina é produzida a partir do piruvato de sódio e é indicada pela formação de uma cor vermelha após a adição de hidróxido de potássio a 40% e alfa naftol a 5%.

Galactosidase (ONPG): a β -galactosidase hidrolisa o orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo, que liberta o orto-nitrofenol de cor amarela.

Citrato, malonato, acetamida, tartarato (CIT, MAL, ACE, TAR): a utilização destes substratos como única fonte de carbono para o metabolismo resulta num aumento do pH, que é detetado pelo indicador azul de bromotimol.

Oxidação/fermentação (OF/G): a oxidação de glicose na resulta na formação de ácido e uma descida de pH é detetada pelo indicador azul de bromotimol. É realizada uma comparação de OF/G com OF/B (base) para determinar se foi produzido qualquer ácido.

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

Cetrimida (CET): a tolerância à cetrimida é demonstrada por crescimento em meio líquido de Mueller-Hinton suplementado com cetrimida.

Penicilina, canamicina, colistina, cefalotina, nitrofurantoína, tobramicina (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): a resistência a concentrações específicas destes agentes antimicrobianos é demonstrada por crescimento.

3. Identificação do organismo

O Biotype Lookup Program existente no gestor de informação LabPro e no site da Beckman Coulter é utilizado para a identificação de organismos de teste desconhecidos. O programa regista a identificação do organismo e as probabilidades relativas, por ordem de maior probabilidade até um resultado cumulativo de 99,9%.

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

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. *Haemophilus* e outras bactérias fastidiosas Gram-negativas não apresentam crescimento em meio líquido de Mueller-Hinton que não tenha sido suplementado com fatores de enriquecimento de crescimento.
2. Os procedimentos aqui descritos adequam-se apenas a bacilos aeróbios e anaeróbios facultativos de Gram-negativos.
3. Podem ser necessários testes adicionais para determinar a identificação final quando se obtém uma identificação de probabilidade baixa (<85%) (consulte o Biotype Lookup Program [Programa de procura de biótipos] da MicroScan ou o Microbiology Manual [Manual de microbiologia]).
4. A interpretação dos resultados dos testes exige a intervenção de pessoal clínico com formação que deve utilizar a avaliação, conhecimentos e testes de confirmação adicionais, onde necessário, antes de aceitar a identificação de um organismo.
5. Os números de biótipos não devem ser usados para identificação fenotípica de estirpes isoladas a partir de várias amostras do mesmo paciente.
6. As entidades de saúde pública devem ser notificadas sobre todos os isolados presumivelmente identificados como *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* ou *F. tularensis*. A confirmação dos isolados destas bactérias pode requerer testes especializados disponíveis exclusivamente em laboratórios de saúde pública ou laboratórios de referência.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Azul, azul-esverdeado, verde	Azul, azul-esverdeado	Azul, azul-esverdeado, verde	Azul, azul-esverdeado, verde
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Cinzento a amarelo	Cinzento a amarelo-acinzentado	Amarelo	N/D
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	N/D
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	N/D
To ₄ ²	-	-	-	N/D

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Consultar a tabela adicional de testes para reações positivas ou negativas adicionais, consoante necessário para cada composto bioquímico.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 pode produzir uma cor rosa pálido em VP após 18 horas de incubação, o que deve ser interpretado como negativo.

4. Pode ser obtida uma fraca reação positiva com *E. coli* ATCC 25922 se os painéis forem incubados durante mais de 18 horas.

5. Pode necessitar de 48 horas de incubação.

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 das indicadas 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

Organismo	Substrato	Resultado esperado
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Organismo	Substrato	Resultado esperado
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Identificação de Gram-negativos liofilizados — CQ de ID simplificado ¹					
Organismo de CQ	Número ATCC	Substrato indicador principal	Resultado esperado	Resultado fora da especificação	Substrato lábil
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Sim
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Sim

1. Os indicadores principais de Controlo de Qualidade são fornecidos para CQ simplificado pelo documento M50-A da CLSI.⁴ 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.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

As pretensões de desempenho do painel de identificação de Gram-negativos desidratados MicroScan foram estabelecidas com base num estudo multicêntrico. Os isolados clínicos e as estirpes de «stock» foram testados no painel de identificação de negativos desidratados do tipo 2 e metodologias em tubo de amostra convencionais para representar o tipo de população bacteriológica esperado na rotina de um laboratório clínico. Consulte a secção Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli (Painéis negativos desidratados [convencionais]: bacilos aeróbios Gram-negativos) no Microbiology Information Manual (Manual de informações microbiológicas) para obter uma lista completa dos organismos incluídos na base de dados.

Percentagem de concordância com o método de referência

N.º testado	N.º de identificações corretas	% de identificação correta
609	593	97,4

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade é estabelecida com testes de várias réplicas sob diferentes condições (por ex., lotes de painéis, dias, instrumentos, utilizadores). Isto pode incluir estirpes de CQ, isolados clínicos ou ambos. A concordância global foi ≥95%.

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.

AVISO PARA O UTILIZADOR

Qualquer incidente grave que tenha ocorrido em relação aos painéis MicroScan deve ser comunicado à Beckman Coulter e à autoridade competente do Estado-membro em que o utilizador e/ou o paciente está estabelecido.

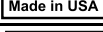
HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO
AA	Maio de 2022	Versão inicial
AB	Dezembro de 2022	Atualizado: Reprodutibilidade

Legenda dos símbolos

Os seguintes símbolos podem ser utilizados na rotulagem de produtos de Microbiologia da Beckman Coulter.

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, cláusula 5.4.2
⌚	Data de validade	Indica a data após a qual o dispositivo médico não deve ser usado.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.4
LOT	Código de lote	Indica o código de lote do fabricante pelo qual o lote pode ser identificado.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.5
REF	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

Legenda dos símbolos			
Símbolo	Designação do símbolo	Descrição do padrão	Padrão
	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, cláusula 5.1.3
	Representante autorizado na Comunidade Europeia	Indica o representante autorizado na Comunidade Europeia.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.2
	Contém o suficiente para <n> testes	Indica o número total de testes de IVD que podem ser realizados com o IVD. (Normalmente incluído nos kits de reagentes).	ISO 15223-1, cláusula 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, cláusula 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, cláusula 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, cláusula 5.3.1
	Este lado para cima	Indica a posição vertical correta	ISO 7000: 0623
	Informações apenas para os EUA	Indica informações que são necessárias apenas para produtos destinados a serem vendidos nos EUA.	n/d
	Utilização apenas com receita médica	Reconhecido pela FDA dos EUA como uma alternativa à declaração «Cuidado: A legislação federal norte-americana limita a venda deste dispositivo a médicos ou por ordem destes»	21CFR 801.109(b)(1)
	Riscos biológicos	Indica que existem potenciais riscos biológicos associados ao dispositivo médico. Nota: Este símbolo não deve ser confundido com o sinal de «risco biológico» que se destina a ser utilizado no local de trabalho.	ISO 15223-1, cláusula 5.4.1
	Perigo	n/d	n/d
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 da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

MicroScan

Prosedyrehandbok for gramnegative ID2, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

TILTENKT BRUK

MicroScan neg. identifiseringspanel type 2 er *in vitro*-diagnostisk medisinsk utstyr beregnet for kvalitativ bestemmelse av identifikasjon til artsnivået for hurtigvoksende aerobe og fakultativt anaerobe gramnegative stavbakterier fra isolerte kolonier. Metodene for inkubasjon og resultatbestemmelse inkluderer full automatisering på WalkAway-instrumenter eller ikke-automatisert offline-inkubasjon med enten avlesing på autoSCAN-4-instrumenter eller manuell avlesing med mulighet for å legge inn resultater i LabPro-databehandlingssystemet.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

SAMMENDRAG OG PRINSIPP

Etter at panelene er inokulert og rehydrert med en standardisert suspensjon av organismen, inkuberes de i minst 16 timer ved 35 °C. Modifiserte konvensjonelle og kromogene tester brukes til identifikasjon av fermenterende og ikke-fermenterende gramnegative stavbakterier. Identifikasjon er basert på påvisning av pH-endringer, substratutnyttelse og vekst i nærvær av antimikrobielle midler etter 16–42 timers inkubasjon ved 35 °C.¹

Neg. ID-panel type 2			
Substrater	Fork.	Substrater	Fork.
Glukose	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sukrose	SUC	Citrat	CIT
Sorbitol	SOR	Malonat	MAL
Raffinose	RAF	o-nitrofenyl-β-D-galaktopyranosid	ONPG
Rhamnose	RHA	Tartrat	TAR
Arabinose	ARA	Acetamid	ACE
Inositol	INO	Cetrimid	CET
Adonitol	ADO	OF glukose	OF/G
Melibiose	MEL	OF-base	OF/B
Urea	URE	Dekarboksylase-base	DCB
Hydrogensulfid	H ₂ S	Nitrat	NIT
Indol	IND	Penicillin G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lysin	LYS	Kanamycin 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginin	ARG	Kolistin 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornitin	ORN	Nitrofurantoin 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Tryptofandeaminase	TDA	Cefalotin 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Eskulin	ESC	Tobramycin 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Antimikrobielle midler brukt til identifikasjon.

KLINISK RELEVANS

Identifikasjonstestresultater brukes sammen med andre laboratorieresultater og kliniske indikatorer for å finjustere behandling hos symptomatiske pasienter.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Kun for *in vitro*-diagnostisk bruk.
2. Overhold aseptiske teknikker og etablerte forholdsregler mot mikrobiologiske farer ved bruk av alle prosedyrer, med spesiell oppmerksomhet på at de inokulerte panelene inneholder potensielt patogene organismer.
3. Dette materialet inneholder smittefarlige stoffer og skal kastes i henhold til krav til biologisk farlig avfall.
4. Resultater fra denne testen skal alltid tolkes i sammenheng med pasienthistorikk, kliniske tegn og andre funn.
5. Kun til engangsbruk. Alle MicroScan-paneler og forbruksvarer skal ikke brukes på nytt med mindre noe annet er oppgitt (f.eks. deksler).
6. Dette produktet inneholder materiale(r) av animalsk opprinnelse fra dehydrerte mikrobiologiske medier. Følg generelle sikkerhetsretningslinjer for beskyttelse ved håndtering av dette produktet.

OPPBEVARING

Tørkede gram-negative paneler må oppbevares ved 2–25 °C.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

TEGN PÅ FORRINGELSE

Hvis identifikasjonssubstrater utsettes for andre oppbevaringsforhold enn anbefalt over lengre tid, kan det medføre hydrolyse for identifikasjonssubstratene. Skal ikke brukes etter utløpsdatoen. Ta kontakt med en Beckman Coulter-representant eller distributør for mer hjelp.

PRØVEINNSAMLING OG KLARGJØRING

Egnede prøver skal innsamles, transporteres og legges på primære isolasjonsmedier i samsvar med prosedyrene som er anbefalt i *Manual of Clinical Microbiology* (Håndbok for klinisk mikrobiologi).²

MEDFØLGENDE MATERIALER

Neg. ID type 2 (B1017-27)

Prosedyre- og kvalitetskontrollhåndbok

PÅKREVDE MATERIALER SOM IKKE MEDFØLGER

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

10 % jernklorid, 30 mL (B1010-48A) eller 250 mL (B1015-48)

0,5 % N, N-dimetylfalfa-naftylamin, 30 mL (B1010-45A) eller 250 mL (B1015-45)

40 % kaliumhydroksid, 30 mL (B1010-43A) eller 250 mL (B1015-43)

0,8 % sulfanilsyre, 30 mL (B1010-44A) eller 250 mL (B1015-44)

0,5 McFarland turbiditetsstandard

Pipette, 100 µL

Strekkodeetikettpapir (B1018-129)

Dekselbrett (B1010-56B)

Vanlig laboratorieutstyr

Kovacs reagens, 30 mL (B1010-41A) eller 250 mL (B1015-41)

Manuelle panelarbeidsark (brukt for registrering av manuelt avleste resultater)

Mikrofortynningsfremviser

Mineralolje, 60 mL (B1010-40)

Mineralolje, 250 mL (B1010-40A)

Oksidasereagens

Kvalitetskontrollorganismer (se delen om kvalitetskontroll i denne håndboken)

Rapportskjemaer for kvalitetskontroll

Reagensdråpetellerpakke (B1013-12A)

RENOK – rehydrator/inokulator (B1018-14) eller tilsvarende

Turbiditetsmåler

Vorteks

MATERIALER TIL ENGANGSBRUK

0,85 % autoklavert saltløsning, 3 mL

Sterile pipettespisser til engangsbruk

Inokulator-D-sett (B1013-4)

Inokuleringsvann, 3 mL (B1015-2)

Inokulumvann med PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Prompt® inokuleringssystem (B1026-10D)**

Forseglingsstrimler (B1010-51)

*PLURONIC®-surfaktanter. Registrert varemerke for BASF-selskapet, Parsippany, NJ, USA.

**3M, St. Paul, MN USA

PROSEDYRE

Klargjøring av panel

1. Ta panelene som skal brukes, ut fra oppbevaringsstedet. Ikke bruk dem hvis emballasjen er skadet (brutt forsegling, punktert eller tom).
2. Klipp opp posen, og ta ut panelet. Hvis panelet er oppbevart i kjøleskap, tar du det straks ut fra folieposen.
3. **Paneler skal ikke brukes hvis noen av følgende forhold forekommer:**
 - A. Tørkemiddel er ikke til stede eller er brutt.
 - B. Panelbrønner er misfarget (f.eks. DCB, forskjellige antimikrobielle midler).
4. La panelene nå romtemperatur før rehydrering. Panelene kan stables med et rent dekselbrett øverst. Alle åpne paneler skal brukes samme dag eller kastes.

Klargjøring av inokulum

CLSI anbefaler at du kontrollerer tettheten til inokulumet ved jevne mellomrom ved å utføre kolonitellinger. Se CLSI-dokument M07 11. utgave for anbefalte kolonitellinger. De forventede resultatene for *E. coli* ATCC 25922 skal være omtrent tilsvarende 5×10^5 CFU/mL for de endelige testkonsentrasjonene.³ Brukeren må være svært oppmerksom i forbindelse med klargjøring av inokulum, spesielt med manuelle metoder som er avhengige av bruk av riktig teknikk, f.eks. Prompt-system eller inokulum som klargjøres uten hjelp av en fotometrisk enhet.

1. Turbiditetsstandardteknikk – primær inokulummetode

Turbiditetsstandardteknikken anbefales for direkte inokulering av alle aerobe gram-negative stavbakterier.

- A. Berør overflaten av 4–5 store eller 5–10 små morfologisk like, godt isolerte kolonier fra en 18–24 timers, ikke-hemmende agarplate ved bruk av en steril påføringspinne, inokuleringsøse eller pensel.
- B. Emulger i 3 mL inokulumvann (autoklavert, avionisert vann).
- C. Lukk godt og bruk vorteksmikser til å blande suspensjonen i 2–3 sekunder.
- D. Den endelige turbiditeten bør være den samme som en 0,5 McFarland-turbiditetsstandard. En tilsvarende turbiditet kan oppnås ved hjelp av en MicroScan-turbiditetsmåler med et område på $0,08 \pm 0,02$.
- E. Pipetter 0,1 mL (100 µL) av den standardiserte suspensjonen i 25 mL inokulumvann med PLURONIC. Sett korken godt på. Vend 8–10 ganger for å blande.

2. Prompt-system

Prompt-systemet kan brukes til å inokulere Gram-negative stavbakterier. Se Prompt Inoculation Procedural Manual (Prosedyrehandbok for Prompt-inokulering) for riktig bruk av Prompt-systemet.

MERK: Brukes med forsiktighet. Underinokulering kan forekomme med organismer som ikke oppfyller størrelseskravet. Underinokulering kan forårsake feil følsomhet og identifikasjonstestresultater.

Oksidasetest

Utfør en oksidasetest før panelene inokuleres. Noter resultatene på egnet sted på arbeidsarket eller etter behov på instrumentet. Oksidaseresultater støtter separasjon av taksoner og tidlig rapportering av bakterier som ikke fermenterer (f.eks. *Acinetobacter baumannii*-kompleks). Ved bruk av WalkAway-systemer er det anbefalt at oksidaseresultater legges inn før strekkoder skrives ut. Enkelte bakterier som ikke fermenterer, kan holde seg i 42 timer, avhengig av vekst. Anbefalt oksidasereagens er tetrametyl-p-fenylendiamindihydroklorid.

Panelrehydrering/inokulering

Rehydrering og inokulering utføres ved hjelp av RENOK-systemet med Inoculators-D (B1013-4). Se RENOK Operator's Manual (Brukerhandbok for RENOK) for bruksanvisninger. Hvis et annet system brukes, rehydrer med $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ inokulumvann med PLURONIC. En endelig brønnskonsentrasjon på $3\text{--}7 \times 10^5$ CFU/mL bør oppnås. For å sikre levedyktighet og renhet i organismen som testes, bør en renhetsskål klargjøres ved å legge en stripe av inokulumet på en egnet agarskål og inkubere under egnede forhold. Hvis det er to eller flere kolonityper på renhetsskålen, isoleres koloniene på nytt og testes om igjen.

Biokjemiske overlegg

1. Bruk en dråpetellerflaske, og legg 3 dråper mineralolje over GLU-, URE-, H₂S-, LYS-, ARG-, ORN- og DCB-brønnene. Disse brønnene er understreket på panelet.
2. Mediet i brønnene må være helt dekket av mineraloljen, men brønnene skal ikke være overfylt.

MERK: WalkAway-systemer (og WalkAway-systemer oppgradert med den automatiske oljeoverleggsfunksjonen) tilsetter olje automatisk i de relevante brønnene.

Forseglingsstrimmel

Kun for oksidase-positive, gramnegative organismer legges en forseglingsstrimmel over CIT-, MAL-, ONPG-, TAR-, ACE-, CET-, OF/G-, OF/B- og DCB-brønnene. Posisjoneringshullet på en kvart tomme skal rettes inn over DCB-brønnen. For WalkAway-systemer brukes lokket i stedet for en forseglingsstrimmel.

Inkubasjon

1. Paneler kan inkuberes i et WalkAway-system eller inkuberes frakoblet med følgende prosedyre:
 - A. Stable panelene i grupper på 3–5 for å sikre jevn varmefordeling under inkubasjon.
 - B. Sett et rent dekselbrett øverst på hver panelgruppe for å forhindre fordamping. Dekselbrett kan brukes flere ganger. Ikke dekontaminer dekselbrett med alkohol. De kan rengjøres med såpe og vann. Skyll godt, og lufttørk.
 - C. Inkuber panelene i minst 16 timer ved 35 °C i en inkubator uten CO₂.

Lese panelene

Paneler kan leses av manuelt, og resultatene registreres på et manuelt panelarbeidsark eller på MicroScan-instrumenter (autoSCAN-4 og WalkAway-systemer). Se Brukerhåndbok for informasjon om å lese av paneler med MicroScan-instrumenter.

1. Ta panelene ut av inkubatoren etter 16–20 timers inkubasjon.
2. Tørk av nederst på panelet med lofritt tørkepapir for å fjerne eventuell kondens eller eventuelle reststoffer som kan forekomme.
3. Les av panelene bare hvis kontrollbrønnen er klar og vekstbrønnen er turbid. Ikke les av panelet hvis kontrollbrønnen er turbid, eller hvis det ikke er vekst i vekstbrønnen. Turbiditet kan vises som hvit uklarhet gjennom brønnen, en hvit knapp midt i brønnen eller en fin, kornete vekst gjennom brønnen. Utilstrekkelig eller ingen vekst defineres som en antydning til hvitfarge i brønnen eller at buljongen er klar.
4. Hvis resultater leses manuelt, noteres resultatene på det aktuelle regnearket.
5. **Lese av identifikasjonssubstrater**
 - A. Les av alle identifikasjonssubstrater med hvit bakgrunn, bortsett fra CET og de antimikrobielle midlene som brukes for å identifisere (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) som bør leses av mot en svart (indirekte opplyst) bakgrunn.
 - B. Følgende substrater leses alltid ved 16–24 timer: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
 - C. Hvis noe av det følgende stemmer:
 - a. GLU-, SUC- eller SOR-positiv, eller
 - b. ARG-positiv og OF/G-positiv, eller
 - c. ARG-positiv og CET-positiv, eller
 - d. LYS-positiv, eller
 - e. ORN-positiv, eller
 - f. OXI-negativ og OF/G-positiv og Fd₆₄ positiv og MAL-positiv.

Tilsett deretter reagenser, og les av de resterende substratene etter 16–24 timer med inkubasjon. Hvis ingen av betingelsene over er tilfelle, skal panelene reinkuberes i ytterligere 24 timer før det tilsettes reagenser og de resterende substratene avleses.

- D. Hvis organismen fortsatt fremstår som ikke-reaktiv etter gjentatt inkubasjon, må det kontrolleres at organismen har hatt vekst i de fenolrøde karbohydratene (spesielt hvis det er svak vekst eller ingen vekst i Mueller-Hinton-vekstkontrollen). Hvis det ikke er vekst i de fenolrøde karbohydratene, bør man ha mistanke om at det er en kresen organisme, f.eks. en halofil *Vibrio*-art. En gramfarging skal gjentas for å bekrefte at den er gram-negativ.
 - a. Hvis det er mistanke om en klinisk signifikant sykdom som følge av en halofil *Vibrio*-art, må en ny test utføres ved å emulgere flere kolonier i 3,0 mL steril 0,85 % saltløsning, i tillegg til ytterligere testing, inkludert vekst i salt, som anbefalt av programvaren. Den endelige turbiditeten bør være den samme som en 0,5 McFarland-turbiditetsstandard. En tilsvarende turbiditet kan oppnås ved hjelp av en MicroScan turbiditetsmåler med et område på 0,08 ± 0,02. Rehydrer panelet med 25 mL uinokulert inokulumvann med PLURONIC ved hjelp av en RENOK. Bruk en steril overføringspipette til å tilsette en dråpe (45–50 µL) av saltløsningssuspensjonen til hver enkelt identifikasjonsbrønn, inkludert vekstbrønnen og brønnene Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ og Fd₆₄. Alle andre trinn for panelbehandling bør følges.
- E. Før avlesning tilsetter du reagensene som følger:

- Tilsett 1 dråpe 40 % kaliumhydroksid (KOH) og 1 dråpe 5 % alfa-naftol i VP-brønningen. Vent i minst 20 minutter på at VP-reaksjonen skal utvikles.
- Tilsett 1 dråpe 10 % jernklorid i TDA-brønningen. Fargen vil utvikles umiddelbart.
- Tilsett 3 dråper MicroScan Kovacs-reagens i IND-brønningen. Fargen vil utvikles umiddelbart.
MERK: MicroScan Kovacs reagens er en spesialformulering som er utformet til bruk med MicroScan-instrumenter. Bare én dråpe er nødvendig hvis panelene avleses manuelt.
- Tilsett 1 dråpe 0,8 % sulfanilsyre og deretter 1 dråpe 0,5 % N, N-dimetylalfanaftylamin i NIT-brønningen. Vent i minst 5 minutter før avlesning for at NIT-reaksjonen skal utvikles.

F. Se avsnittet RESULTATER for å få hjelp til biokjemisk tolkning.

RESULTATER

1. Biokjemiske tolkninger

Brønn	Reagens	Positiv	Negativ
GLU		Bare sterk gul	Oransje til rødt
		Bakterier som ikke fermenterer, kan avgi en gyllen farge som bør anses som negativ.	
SUC		Gul til gul/oransje	Oransje til rødt
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Magenta til rosa	Gul, oransje eller lys rosa
H ₂ S		Svart presipitat eller svart knapp	Ingen sverting
IND	Tilsett 3 dråper (eller én dråpe hvis panelet leses visuelt) MicroScan Kovacs reagens. Farge utvikles umiddelbart.	Rosa til rød	Svak gul til oransje
		<i>Providencia</i> sp. kan produsere en svak rosa ring som skal anses for å være positiv.	
Sammenlign LYS, ARG og ORN med DCB. Disse brønnene må overlegges med olje for at følgende resultater skal være gyldige. Lilla vurderes som positivt ved sammenligning med en grå DCB-brønn. Grå vurderes som positivt ved sammenligning med en gul DCB-brønn. For bakterier som ikke fermenterer, må en positiv test være betydelig mer lilla enn basekontrollen. Hvis basekontrollen er lilla, er basemediet alkalisk og LYS, ARG og ORN bør alle registreres som negative. <i>Achromobacter</i> -arter og <i>Ochrobactrum anthropi</i> har en tendens til å gjøre dette.			
LYS		Lilla til grå	Gul
ARG			
ORN		Lilla	Fargeløs til grå
TDA	Tilsett 1 dråpe 10 % jernklorid. Farge utvikles umiddelbart.	Alle nyanser av brun	Gult til oransje
ESC		Lys brun til svart	Beige til fargeløs
VP	Tilsett 1 dråpe 40 % KOH og 1 dråpe 5 % alfa-naftol. Vent i minst 20 minutter på at reaksjonen skal utvikles.	Rød	Fargeløs
		Noen bakterier som ikke fermenterer, kan produsere en svak rosafarge etter 18 timers inkubasjon, som bør anses som negativ.	
ONPG		Gul	Fargeløs
Sammenlign en hvilken som helst ONPG-brønn som ser klar ut, med cetrimid-brønningen. Hvis ONPG viser gult sammenlignet med cetrimid-brønningen, registreres det som positivt.			

Brønn	Reagens	Positiv	Negativ
CIT		Blå til blågrønn	Grønn til gul
MAL		En hvilken som helst nyanse av blå anses som positiv	
TAR			
ACE			
CET		Vekst	Ingen vekst
OF/G		Gul	Hvis OF-basen er grønn: Grønn til blå
		Gul til grønn	Hvis OF-basen er blå til blågrønn: Blå
		Sammenlign OF/G-brønnen med OF-basekontroll.	
NIT	Tilsett 1 dråpe 0,8 % sulfanilsyre og deretter 1 dråpe 0,5 % N, N-dimetylfalanaftylamin. Vent i minst 5 minutter på at reaksjonen skal utvikles.	Rød	Fargeløs til svak rosa
P ₄		Vekst (resistent)	Ingen vekst (følsom)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Kun for panelgjenkjennelse med autoSCAN-4- og WalkAway-systemer.		

2. Prinsipper for identifiseringsreaksjoner

Karbohydratfermentering (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Fermenteringen av et spesifikt karbohydrat resulterer i syredannelse, og en reduksjon i pH påvises av en fenolrød-indikator.

Urea (URE): Enzymet urease deler urea, noe som danner ammoniakk. Den resulterende økningen i pH påvises av fenolrød-indikatoren.

Hydrogensulfid (H₂S): Hydrogensulfidgass produseres fra natriumtiosulfat og reagerer med jernioner i mediet for å produsere et svart presipitat.

Indol (IND): Metabolismen av tryptofan resulterer i dannelsen av indol, som påvises ved tilsetning av Kovacs reagens. En rød farge utvikles i nærvær av indol.

Lysin, arginin, ornitin (LYS, ARG, ORN): Dekarboksylering av disse aminosyrene resulterer i dannelsen av basiske aminer, som påvises av bromkresolpurpur-indikatoren.

Tryptofandeaminase (TDA): Bakterier som kan deaminere tryptofan, produserer indolpyrroldoesyre, som reagerer med jernammoniumsitratt i mediet etter tilsetning av jernklorid og danner en brun farge.

Eskulinhydrolyse (ESC): Hydrolyse av eskulin påvises ved jernammoniumsitratt i mediet, som reagerer med de hydrolytiske produktene og danner et svart presipitat.

Voges-Proskauer (VP): Acetoin produseres fra natriumpyruvat og er indikert ved at det dannes en rød farge etter tilsetning av 40 % kaliumhydroksid og 5 % alfa-naftol.

Galaktosidase (ONPG): β-galaktosidase hydrolyserer orto-nitrofenyl-β-D-galaktopyranosid, som frigjør det gulfargede orto-nitrofenolet.

Sitrat, malonat, acetamid, tartrat (CIT, MAL, ACE, TAR): Bruken av disse substratene som den eneste kilden til karbon for metabolisme resulterer i en økning i pH som påvises av bromtymolblå-indikatoren.

Oksidering-fermentering (OF/G): Oksideringen av glukose resulterer i syredannelse, og en reduksjon i pH påvises av en bromtymolblå-indikator. OF/G sammenlignes med OF/B (base) for å bestemme om det er dannet syre.

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

Cetrimid (CET): Toleranse mot cetrimid vises ved vekst i Mueller-Hinton-buljong tilsatt cetrimid.

Penicillin, kanamycin, kolistin, cefalotin, nitrofurantoin, tobramycin (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Resistens mot spesifikke konsentrasjoner av disse antimikrobielle midlene vises ved vekst.

3. Identifisering av organisme

Biotype Lookup Program i LabPro-informasjonsbehandleren og på Beckman Coulters nettside brukes for å identifisere ukjente testorganismer. Programmet oppgir organismens identifikasjon og de relative sannsynlighetene, i rekkefølge etter størst sannsynlighet, opptil en samlet total på 99,9 %.

Hvis det forekommer et biotypenummer som resulterer i en «Svært sjelden biotype», kan du se LabPro-programvaren (Utilities (Verktøy)>System (System)>Biotype Lookup (Biotypesøk)), Biotype Lookup Program på Beckman Coulters nettside, eller ta kontakt med din Beckman Coulter-representant eller -distributør.

PROSEDYREBEGRENSNINGER

1. *Haemophilus* og andre kravfulle gramnegative bakterier vokser ikke i Mueller-Hinton-buljong som ikke er supplert med veksttilsetninger.
2. Prosedyrene som er beskrevet heri, er bare egnet for fakultativt anaerobe og aerobe gramnegative stavbakterier.
3. Flere tester kan være nødvendige for å påvise den endelige identifiseringen når en identifikasjon med lav sannsynlighet (< 85 %) er oppnådd (se håndboken for MicroScan Biotype Lookup Program eller håndboken for mikrobiologi).
4. Tolkningen av testresultater krever faglært klinisk personale som bør bruke sin dømmekraft og kompetanse, samt ytterligere bekreftende tester når det er nødvendig, før de aksepterer identifiseringen av en organisme.
5. Biotypenumre bør ikke brukes til identifisering av fenotype for stammer isolert fra forskjellige prøver for samme pasient.
6. Behørig myndighet skal underrettes om alle isolater som presumptivt er identifisert som *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* eller *F. tularensis*. Bekreftelse av isolater fra disse bakteriene kan forutsette spesialisert testing som bare er tilgjengelig i referanselaboratorier eller offentlige helselaboratorier.

KVALITETSKONTROLL

Identifikasjonsmedienes akseptabilitet skal sjekkes ved å teste organismer med kjente reaksjoner. Resultatene for de anbefalte kontrollorganismene for American Type Culture Collection (ATCC) er oppgitt i tabellen nedenfor.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Blå, blågrønn, grønn	Blå, blågrønn	Blå, blågrønn, grønn	Blå, blågrønn, grønn
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Grå til gul	Grå til gulgrå	Gul	I/R
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	I/R
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	I/R
To ₄ ²	-	-	-	I/R

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Se tabellen over tilleggstester for ytterligere positive eller negative reaksjoner etter behov for hver biokjemiske middel.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 kan produsere en blekrosa farge i VP etter 18 timers inkubasjon, som skal tolkes som negativ.

4. En svakt positiv reaksjon kan oppnås med *E. coli* ATCC 25922 hvis paneler inkuberes i mer enn 18 timer.

5. Kan kreve inkubasjon i 48 timer.

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

I/R = ikke relevant

MERK: Kvalitetskontrollorganismer velges for å gi positive/negative reaksjoner for alle identifikasjonssubstrater. Derfor kan organismeidentifikasjonene variere i forhold til det som er oppgitt i kvalitetskontrolltabellen. Produkttytelsens akseptabilitet bør bestemmes ved sammenligning av testresultater, ikke identifikasjon.

Tabell over tilleggstester

Organisme	Substrat	Forventet resultat
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Tørket gramneg. identifikasjon – strømlinjeformet kvalitetskontroll av ID ¹					
Kvalitetskontroll-organisme	ATCC-nummer	Hovedindikator-substrat	Forventet resultat	Resultat utenfor spesifikasjon	Labilt substrat
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Ja
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Ja

1. Hovedindikatorer for kvalitetskontroll er gitt for strømlinjeformet kvalitetssikring iht. CLSI-dokument M50-A.⁴ Før det strømlinjeformede kvalitetskontrollprogrammet implementeres, kan du se M50-A-dokumentet for detaljer og ta kontakt med relevante kontrollmyndigheter og inspektører for å bekrefte at det er tilfredsstillende.

YTELSESKARAKTERISTIKA

Ytelseskrav for MicroScan tørkede gram-negative identifikasjonspaneler ble etablert i en multisenterstudie. Kliniske isolater og stammer ble testet på det tørkede neg. ID type 2-panelet og konvensjonelle prøverørmetoder for å representere typen bakteriell populasjon som forventes i et rutinemessig klinisk laboratorium. Se delen om tørkede (konvensjonelle) neg. paneler: gram-negative aerobe stavbakterier i informasjonshåndboken for mikrobiologi, for en fullstendig liste over organismer inkludert i databasen.

Prosentvis samsvar med referansem metode

Antall testet	Antall riktig identifikasjon	% riktig identifikasjon
609	593	97,4

REPRODUSERBARHET

Reproduserbarhet etableres ved å teste flere replikater under forskjellige forhold (f.eks. panelpartier, dager, instrumenter, brukere). Dette kan omfatte kvalitetskontrollstammer, kliniske isolater eller begge deler. Samlet samsvar var $\geq 95\%$.

GARANTI

Systemet er dekket av og underlagt bestemmelsene i garantien som er omfattet i kontraktavtalen for systemet eller dets reagenser. Kunden er ansvarlig for å utføre rutinemessig forebyggende vedlikeholdsarbeid. Reparasjoner som oppstår ved at disse vedlikeholdsprosedyrene unnlates utført ved de indikerte tidsintervallene er foretatt etter Beckman Coulters skjønn, og belastes kunden.

MERKNAD TIL BRUKER

Enhver alvorlig hendelse som har skjedd i forbindelse med MicroScan-paneler skal rapporteres til Beckman Coulter og aktuelle myndigheter i medlemslandet der brukeren og/eller pasienten oppholder seg.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON	DATO	BESKRIVELSE
AA	Mai 2022	Første utgave
AB	Desember 2022	Oppdatert: Reproduserbarhet

Symbolforklaring

De følgende symbolene kan brukes i merkingen av Beckman Coulter mikrobiologiske produkter.

Symbolforklaring			
Symbol	Symboltittel	Beskrivelse av standard	Standard
	Ikke til gjenbruk	Angir medisinsk utstyr som er beregnet for engangsbruk eller for bruk på én pasient under én prosedyre.	ISO 15223-1, del 5.4.2
	Utløpsdato	Angir den siste datoen det medisinske utstyret kan brukes.	ISO 15223-1, del 5.1.4
	Batchkode	Angir produsentens batchkode, slik at en batch eller en lot kan identifiseres.	ISO 15223-1, del 5.1.5
	Katalognummer	Angir produsentens katalognummer, slik at det medisinske utstyret kan identifiseres.	ISO 15223-1, del 5.1.6
	Produsent	Angir produsenten av det medisinske utstyret som definert i EU-direktivene 90/385/EØF, 93/42/EØF og 98/79/EF.	ISO 15223-1, del 5.1.1
	Produksjonsdato	Angir datoen da det medisinske utstyret ble produsert.	ISO 15223-1, del 5.1.3
	Autorisert representant i EU	Angir autorisert representant i EU.	ISO 15223-1, del 5.1.2
	Inneholder nok til <n> analyser	Angir det totale antallet IVD-tester som kan utføres med IVD. (Normalt inkludert på reagenssettene.)	ISO 15223-1, del 5.5.5
	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr	Angir medisinsk utstyr som er beregnet for bruk som in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr.	ISO 15223-1, del 5.5.1
	Temperaturbegrensning	Angir temperaturgrensene det medisinske utstyret trygt kan settes for.	ISO 15223-1, del 5.3.7
	Se bruksanvisning	Angir at brukeren må sjekke bruksanvisningen.	ISO 15223-1, del 5.4.3
	CE-merke	Europeisk merke for samsvar	Ikke relevant
	Innhold	Ikke relevant	Ikke relevant
	Innhold (pakke)	Antimikrobielt middel (forkortelse)	Ikke relevant
	Innhold (pakke)	Identifiseringssubstrat (forkortelse)	Ikke relevant
	Sikkerhetsdatablad	Angir et sikkerhetsdatablad.	Ikke relevant
	Made in USA	Ikke relevant	Ikke relevant
	Kun til eksportbruk	Ikke relevant	Ikke relevant
	Rekonstitueringsvolum	Ikke relevant	Ikke relevant
	Ømtålig, behandles med varsomhet	Angir medisinsk utstyr som kan bli ødelagt eller skadet hvis det ikke håndteres forsiktig.	ISO 15223-1, del 5.3.1
	Denne siden opp	Angir riktig stående stilling	ISO 7000: 0623
	Informasjon kun for USA	Indikerer informasjon som kun kreves for produkter som er ment å selges i USA.	Ikke relevant
	Kun reseptbelagt bruk	Godkjent av FDA i USA som et alternativ til «Forsiktig: Føderal lov begrenser dette utstyret til salg av eller på ordre fra en lisensiert praktiserende lege»	21CFR 801.109(b)(1)
	Biologiske risikoer	Angir at det er potensielle biologiske risikoer forbundet med det medisinske utstyret. Merk: Dette symbolet må ikke forveksles med "biologisk farlig"-skiltet som skal brukes på arbeidsplassen.	ISO 15223-1, del 5.4.1
	Fare	Ikke relevant	Ikke relevant

ISO 15223-1: Medical devices - Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied. Part 1: General Requirements.
(ISO 15223-1: Medisinsk utstyr – Symboler til bruk på etiketter, som merking eller til informasjon for medisinsk utstyr. Del 1: Generelle krav.)

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

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η πλάκα ταυτοποίησης αρνητικών οργανισμών τύπου 2 της MicroScan είναι ένα ιατροτεχνολογικό προϊόν διάγνωσης *in vitro* που προορίζεται για τον ποιοτικό προσδιορισμό της ταυτοποίησης ταχέως αναπτυσσόμενων αερόβιων και προαιρετικά αναερόβιων αρνητικών κατά Gram βακίλλων από αποικίες απομονωμένων στελεχών, σε επίπεδο είδους. Οι μέθοδοι επώασης και προσδιορισμού αποτελεσμάτων περιλαμβάνουν πλήρη αυτοματισμό σε σύστημα οργάνων WalkAway ή μη αυτόματη επώαση εκτός σύνδεσης, είτε με ανάγνωση σε σύστημα οργάνων autoSCAN-4 είτε με μη αυτόματη ανάγνωση με την επιλογή της καταχώρισης αποτελεσμάτων στο σύστημα διαχείρισης δεδομένων LabPro.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Μετά από ενοφθαλμισμό και επανενυδάτωση με τυποποιημένο εναιώρημα οργανισμού, οι πλάκες επωάζονται επί τουλάχιστον 16 ώρες σε θερμοκρασία 35 °C. Για την ταυτοποίηση ζυμωτικών και μη ζυμωτικών αρνητικών κατά Gram βακίλλων 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 16–42 ώρες επώασης σε θερμοκρασία 35 °C.¹

Πλάκα ταυτοποίησης αρνητικών μικροοργανισμών τύπου 2			
Υποστρώματα	Συντμ.	Υποστρώματα	Συντμ.
Γλυκόζη	GLU	Voges-Proskauer	VP
Σακχαρόζη	SUC	Κιτρικό	CIT
Σορβιτόλη	SOR	Μηλονικό	MAL
Ραφινόζη	RAF	ο-νιτροφαινυλο-β-D-γαλακτοπυρανοζίτης	ONPG
Ραμνόζη	RHA	Τρυγικό	TAR
Αραβινόζη	ARA	Ακεταμίδιο	ACE
Ινοσιτόλη	INO	Σετρίμιδη	CET
Αδονιτόλη	ADO	Γλυκόζη OF	OF/G
Μελιβιόζη	MEL	Βάση OF	OF/B
Ουρία	URE	Βάση αποκαρβοξυλάσης	DCB
Υδροθείο	H ₂ S	Νιτρικό	NIT
Ινδόλη	IND	Πενικιλίνη G 4 µg/mL ¹	P ₄
Λυσίνη	LYS	Καναμυκίνη 4 µg/mL ¹	K ₄
Αργινίνη	ARG	Κολιστίνη 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ορνιθίνη	ORN	Νιτροφουραντόϊνη 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Απαμινάση της τρυπτοφάνης	TDA	Κεφαλοθίνη 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Εσκουλίνη	ESC	Τομπραμυκίνη 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Αντιμικροβιακοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Τα αποτελέσματα της εξέτασης ταυτοποίησης χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλα εργαστηριακά αποτελέσματα και κλινικούς δείκτες, ώστε να βελτιστοποιηθεί η θεραπεία σε συμπτωματικούς ασθενείς.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- 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.
- Το συγκεκριμένο υλικό περιέχει λοιμογόνους παράγοντες και πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τις διαδικασίες που προβλέπονται για τα βιολογικά επικίνδυνα απόβλητα.
- 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.
- Για μία μόνο χρήση. Όλες οι πλάκες MicroScan και τα αναλώσιμα δεν πρέπει να επαναχρησιμοποιούνται, εκτός εάν ορίζεται διαφορετικά (π.χ. δίσκοι κάλυψης).
- Το παρόν προϊόν περιέχει υλικό(ά) ζωικής προέλευσης από αφυδατωμένο μικροβιολογικό μέσο. Τηρείτε τις κατευθυντήριες γραμμές ασφαλείας για προστασία κατά τον χειρισμό του παρόντος προϊόντος.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Οι αποξηραμένες πλάκες gram αρνητικών οργανισμών πρέπει να φυλάσσονται στους 2–25 °C.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο



Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση
beckmancoulter.com/techdocs

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 ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Κατάλληλα δείγματα πρέπει να συλλέγονται, να μεταφέρονται και να τοποθετούνται σε μέσα αρχικής απομόνωσης, σύμφωνα με διαδικασίες που συνιστώνται στο *Manual of Clinical Microbiology (Εγχειρίδιο Κλινικής Μικροβιολογίας)*.²

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Ταυτοποίηση αρνητικών μικροοργανισμών τύπου 2 (B1017-27)

Εγχειρίδιο διαδικασιών και ποιοτικού ελέγχου

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

A-ναφθόλη 5%, 30 mL (B1010-42A)

Χλωριούχος σίδηρος 10%, 30 mL (B1010-48A) ή 250 mL (B1015-48)

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

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

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

Πρότυπο θολερότητας 0,5 της κλίμακας McFarland

Αυτόματη πιπέτα 100 µL

Χαρτί ετικετών γραμμωτού κώδικα (B1018-129)

Καλυπτρίδες (B1010-56B)

Γενικός εργαστηριακός εξοπλισμός

Αντιδραστήριο Kovac, 30 mL (B1010-41A) ή 250 mL (B1015-41)

Φύλλα εργασίας για μη αυτόματη ανάγνωση πλακών (χρησιμοποιούνται για την καταγραφή αποτελεσμάτων μη αυτόματης ανάγνωσης)

Σύστημα παρακολούθησης μικροαραίωσης

Παραφινέλαιο, 60 mL (B1010-40)

Παραφινέλαιο, 250 mL (B1010-40A)

Αντιδραστήριο οξειδάσης

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

Έντυπα αναφοράς ποιοτικού ελέγχου

Κιτ σταγονόμετρου αντιδραστηρίου (B1013-12A)

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

Θολοσίμετρο

Περιδίνηση

ΥΛΙΚΑ ΜΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ

Αλατούχο διάλυμα 0,85% αποστειρωμένο σε αυτόκαυστο, 3 mL

Αποστειρωμένα ρύγχη πιπέτας μίας χρήσης

Σετ Inoculator-D (B1013-4)

Ύδωρ ενοφθαλμισμού, 3 mL (B1015-2)

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

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

Ταινίες σφράγισης (B1010-51)

Καπάκια δίσκων WalkAway (B1018-18)

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρασκευή των πλακών

1. Απομακρύνετε τις πλάκες που προορίζονται για χρήση από τον χώρο φύλαξης. Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν εάν η συσκευασία έχει αλλοιωθεί (έχει αποσφραγιστεί, τρυπηθεί ή σκιστεί).
2. Κόψτε τη συσκευασία για να την ανοίξετε και αφαιρέστε την πλάκα. Εάν φυλάσσεται στο ψυγείο, αφαιρέστε αμέσως την πλάκα από τη συσκευασία από αλουμινόφυλλο.
3. **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 έχουν αποχρωματιστεί (π.χ. DCB, διάφοροι αντιμικροβιακοί παράγοντες).
4. 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.

Παρασκευή του ενοφθαλμίσματος

Το CLSI συνιστά τον περιοδικό έλεγχο των πυκνοτήτων του ενοφθαλμίσματος μέσω καταμέτρησης των αποικιών. Ανατρέξτε στο έγγραφο M07, 11η έκδ. του CLSI για τις συστάσεις όσον αφορά την καταμέτρηση των αποικιών. Τα αναμενόμενα αποτελέσματα για το στέλεχος *E. coli* ATCC 25922 θα πρέπει να προσεγγίζουν σε μεγάλο βαθμό τις 5×10^5 CFU/mL για τις τελικές συγκεντρώσεις της εξέτασης.³ Ο χρήστης 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 του ενοφθαλμίσματος που παρασκευάζεται χωρίς τη χρήση φωτομετρικής συσκευής.

1. Τεχνική προτύπου θολερότητας - Μέθοδος πρωτογενούς ενοφθαλμίσματος

Η τεχνική προτύπου θολερότητας συνιστάται για τον άμεσο ενοφθαλμισμό όλων των αερόβιων gram αρνητικών βακίλων.

- A. Με χρήση ενός στείρου κρικοφόρου ή βαμβακοφόρου σπειροειδούς, αγγίστε την επιφάνεια 4–5 μεγάλων ή 5–10 μικρών, μορφολογικά παρόμοιων, καλά απομονωμένων αποικιών από ένα τρυβλίο με μη ανασταλτικό άγαρ 18–24 ωρών.
- B. Εναιωρήστε σε 3 mL ύδατος ενοφθαλμισμού (απιονισμένο νερό, αποστειρωμένο σε αυτόκαυστο).
- C. Πωματίστε ερμητικά και περιδινήστε το εναιώρημα για 2–3 δευτερόλεπτα.
- D. Η τελική θολερότητα πρέπει να είναι ισοδύναμη με πρότυπο θολερότητας 0,5 της κλίμακας McFarland. Μια ισοδύναμη θολερότητα μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας ένα θολοσίμετρο MicroScan, με εύρος τιμών $0,08 \pm 0,02$.
- E. Εισαγάγετε με πιπέτα 0,1 mL (100 µL) 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 τον ενοφθαλμισμό Gram-αρνητικών βακίλων. Για τη σωστή χρήση του, ανατρέξτε στο Prompt Inoculation Procedural Manual (Εγχειρίδιο της διαδικασίας ενοφθαλμισμού του συστήματος Prompt).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: 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 ευαισθησίας και ταυτοποίησης.

Εξέταση οξειδάσης

Εκτελέστε μια εξέταση οξειδάσης πριν από τον ενοφθαλμισμό των πλακών. Καταγράψτε τα αποτελέσματα στον κατάλληλο χώρο του φύλλου εργασίας ή όπως απαιτείται από το σύστημα οργάνων. Τα αποτελέσματα οξειδάσης υποστηρίζουν τον διαχωρισμό ταξινομικών ομάδων και την πρώιμη αναφορά μη ζυμωτικών (π.χ. σύμπλοκο *Acinetobacter baumannii*). Για τα συστήματα WalkAway, τα αποτελέσματα οξειδάσης συνιστάται να καταχωρίζονται πριν από την εκτύπωση των γραμμικών

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

**3M, St. Paul, MN ΗΠΑ

κωδίκων. Κάποια μη ζυμωτικά ενδέχεται να εξακολουθούν να διατηρούνται έως 42 ώρες, ανάλογα με την ανάπτυξη. Το συνιστώμενο αντιδραστήριο οξειδάσης είναι η διυδροχλωρική τετραμεθυλο-p-φαινυλενοδιαμίνη.

Επανεκδότηση/ενοφθαλμισμός των πλακών

Η επανεκδότηση και ο ενοφθαλμισμός εκτελούνται με χρήση του συστήματος RENOK με Inoculators-D (B1013-4). Ανατρέξτε στο RENOK Operator's Manual (Εγχειρίδιο χειριστή του συστήματος RENOK) για οδηγίες χρήσης. Εάν χρησιμοποιείτε κάποιο εναλλακτικό σύστημα, επανεκδώστε με $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ ύδατος ενοφθαλμίσματος με PLURONIC. Στα βοηθία θα πρέπει να επιτυγχάνεται τελική συγκέντρωση $3-7 \times 10^5 \text{ CFU/mL}$. Για να διασφαλίσετε τη βιωσιμότητα και την καθαρότητα του οργανισμού που εξετάζεται, θα πρέπει να παρασκευάσετε ένα τρυβλίο καθαρότητας επιστρώνοντας το ενοφθαλμισμα 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

1. Χρησιμοποιώντας φιάλη σταγονόμετρου, επιστρώστε τα βοηθία GLU, URE, H_2S , LYS, ARG, ORN και DCB με 3 σταγόνες παραφινέλαιου. Αυτά τα βοηθία είναι υπογραμμισμένα στην πλάκα.
2. Τα μέσα στα βοηθία πρέπει να καλύπτονται πλήρως με παραφινέλαιο, το οποίο όμως δεν θα πρέπει να υπερχειλίζει τα βοηθία.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα συστήματα WalkAway (και τα συστήματα WalkAway που έχουν αναβαθμιστεί με τη δυνατότητα αυτοματοποιημένης επίστρωσης ελαίου) προσθέτουν αυτόματα έλαιο στα κατάλληλα βοηθία.

Ταινία σφράγισης

Μόνο για τους θετικούς στην οξειδάση, Gram-αρνητικούς οργανισμούς, τοποθετήστε μια ταινία σφράγισης επάνω στα βοηθία CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B και DCB. Η οπή εντοπισμού ενός τετάρτου της ίντσας που διαθέτει η ταινία θα πρέπει να είναι ευθυγραμμισμένη επάνω από το βοηθίο DCB. Στα συστήματα WalkAway, αντί για ταινία σφράγισης χρησιμοποιείται το καπάκι.

Επώαση

1. Οι πλάκες μπορούν να επωαστούν σε σύστημα WalkAway ή να επωαστούν εκτός αναλυτή, με χρήση των παρακάτω βημάτων:
 - A. Για να διασφαλιστεί ομοιόμορφη κατανομή θερμότητας κατά τη διάρκεια της επώασης, στοιβάξτε τις πλάκες σε ομάδες των 3–5.
 - B. 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.
 - C. Αφήστε τις πλάκες να επωαστούν για τουλάχιστον 16 ώρες σε θερμοκρασία 35°C , σε μονάδα επώασης που λειτουργεί χωρίς CO_2 .

Ανάγνωση των πλακών

Η ανάγνωση των πλακών μπορεί να γίνει μη αυτόματα και τα αποτελέσματα να καταγραφούν σε ένα φύλλο εργασίας για μη αυτόματη ανάγνωση πλακών ή στο σύστημα οργάνων MicroScan (συστήματα autoSCAN-4 και WalkAway). Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χειριστή για ανάγνωση των πλακών με το σύστημα οργάνων MicroScan.

1. Μετά από 16–20 ώρες επώασης, αφαιρέστε τις πλάκες από τον επωαστήρα.
2. 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.
3. Η ανάγνωση των πλακών γίνεται μόνο αν το βοηθίο μάρτυρα είναι διαυγές και το βοηθίο ανάπτυξης είναι θολερό. Μην προβαίνετε σε ανάγνωση της πλάκας εάν το βοηθίο μάρτυρα είναι θολερό ή εάν δεν υπάρχει ανάπτυξη στο βοηθίο ανάπτυξης. Η θολερότητα μπορεί να λάβει τη μορφή λευκής θόλωσης σε ολόκληρο το βοηθίο, λευκού «κομβίου» στο κέντρο του βοηθίου ή λεπτής κοκκώδους ανάπτυξης σε ολόκληρο το βοηθίο. Ως ανεπαρκής ανάπτυξη ή απουσία ανάπτυξης ορίζεται η ελαφρά λευκότητα στο βοηθίο ή η διαύγεια του ζωμού.
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 πραγματοποιείται σε λευκό υπόβαθρο, εκτός από τα CET και τα αντιμικροβιακά που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση (Cl_4 , Cf_8 , P_4 , K_4 , Fd_{64} , To_4), η ανάγνωση των οποίων θα πρέπει να πραγματοποιείται έναντι μαύρου (έμμεσα φωτισμένου) υποβάθρου.
 - B. Η ανάγνωση των παρακάτω υποστρωμάτων πραγματοποιείται πάντα στις 16–24 ώρες: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P_4 , K_4 , Cl_4 , Fd_{64} , Cf_8 , To_4 .
 - C. Εάν ισχύει οποιαδήποτε από τα ακόλουθα:
 - a. GLU ή SUC ή SOR θετικό ή

- b. ARG θετικό και OF/G θετικό ή
- c. ARG θετικό και CET θετικό ή
- d. LYS θετικό ή
- e. ORN θετικό ή
- f. OXI αρνητικό και OF/G θετικό και Fd₆₄ θετικό και MAL θετικό.

Στη συνέχεια, προσθέστε αντιδραστήρια και προβείτε σε ανάγνωση των υποστρωμάτων που απομένουν στις 16–24 ώρες επώασης. Αν δεν ισχύει καμία από τις παραπάνω συνθήκες, προτού προσθέσετε αντιδραστήρια και προβείτε σε ανάγνωση των υποστρωμάτων που απομένουν, εκτελέστε εκ νέου επώαση των πλακών για επιπλέον 24 ώρες.

- D. Εάν, μετά την επανεπώαση, ο οργανισμός εξακολουθεί να είναι μη αντιδραστικός, ελέγξτε για να βεβαιωθείτε ότι ο οργανισμός έχει αναπτυχθεί στους υδατάνθρακες του ερυθρού της φαινόλης (ιδιαίτερα εάν υπάρχει ισχνή ή καθόλου ανάπτυξη στον μάρτυρα ανάπτυξης Mueller-Hinton). Αν δεν υπάρχει ανάπτυξη στους υδατάνθρακες του ερυθρού της φαινόλης, θα πρέπει να εγερθεί η υποψία απαιτητικού οργανισμού, όπως ένα είδος αλόφιλου *Vibrio*. Θα πρέπει να επαναληφθεί μια gram χρώση για να επιβεβαιωθεί ότι είναι gram αρνητικός.
- a. Αν υπάρχει υποψία μιας κλινικά σημαντικής ασθένειας λόγω του είδους αλόφιλου *Vibrio*, επαναλάβετε την εξέταση εναιωρώντας πολλές αποικίες σε 3,0 mL στείρου αλατούχου διαλύματος 0,85% και εκτελέστε επίσης πρόσθετες εξετάσεις, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης σε άλας, όπως συνιστά το λογισμικό. Η τελική θολερότητα θα πρέπει να είναι ισοδύναμη με πρότυπο θολερότητας 0,5 της κλίμακας McFarland. Μια ισοδύναμη θολερότητα μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας ένα θολοσίμετρο MicroScan, με εύρος 0,08 ± 0,02. Επανεκτελέστε την πλάκα με 25 mL μη ενοφθαλμισμένου ύδατος ενοφθαλμισμού με PLURONIC χρησιμοποιώντας σύστημα RENOK. Χρησιμοποιώντας στείρα πιπέτα μεταφοράς, προσθέστε μία σταγόνα (45–50 µL) του εναιωρήματος αλατούχου διαλύματος σε κάθε βοηθίο ταυτοποίησης, συμπεριλαμβανομένων των βοηθίων ανάπτυξης, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ και Fd₆₄. Θα πρέπει να ακολουθήσετε όλα τα υπόλοιπα βήματα επεξεργασίας των πλακών.
- E. Πριν από την ανάγνωση, προσθέστε τα αντιδραστήρια ως εξής:
- a. Προσθέστε 1 σταγόνα υδροξειδίου του καλίου (KOH) 40% και 1 σταγόνα α-ναφθόλης 5% στο βοηθίο VP. Περιμένετε τουλάχιστον 20 λεπτά για να αναπτυχθεί η αντίδραση VP.
- b. Προσθέστε 1 σταγόνα χλωριούχου σιδήρου 10% στο βοηθίο TDA. Το χρώμα θα εμφανιστεί αμέσως.
- c. Προσθέστε 3 σταγόνες αντιδραστήριου Kovacs της MicroScan στο βοηθίο IND. Το χρώμα θα εμφανιστεί αμέσως.
- ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Το αντιδραστήριο Kovacs της MicroScan έχει ειδική σύνθεση, που έχει σχεδιαστεί για χρήση με τα όργανα της MicroScan. Απαιτείται μόνο μία σταγόνα, αν η ανάγνωση των πλακών δεν εκτελείται αυτόματα.
- d. Προσθέστε 1 σταγόνα σουλφανιλικού οξέος 0,8% και, στη συνέχεια, 1 σταγόνα N, N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνης 0,5% στο βοηθίο NIT. Περιμένετε τουλάχιστον 5 λεπτά πριν από την ανάγνωση, προκειμένου να αναπτυχθεί η αντίδραση NIT.

F. Ανατρέξτε στην ενότητα ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ για βοήθεια στη βιοχημική ερμηνεία.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Βιοχημικές ερμηνείες

Βοηθίο	Αντιδραστήριο	Θετικό	Αρνητικό
GLU		Έντονο κίτρινο μόνο	Πορτοκαλί προς κόκκινο
SUC		Ορισμένα είδη μη ζυμωτικών ενδέχεται να παραγάγουν ένα χρυσαφί χρώμα, το οποίο πρέπει να θεωρείται αρνητικό. Κίτρινο προς κίτρινο/πορτοκαλί	Πορτοκαλί προς κόκκινο
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Βαθύ κόκκινο προς ροζ	Κίτρινο, πορτοκαλί ή ανοικτό ροζ
H ₂ S		Μαύρο ίζημα ή μαύρο «κομβίο»	Δεν μαυρίζει

Βοθρίο	Αντιδραστήριο	Θετικό	Αρνητικό
IND	Προσθέστε 3 σταγόνες (ή μία σταγόνα εάν γίνεται οπτική ανάγνωση της πλάκας) αντιδραστήριου Kovac της MicroScan. Το χρώμα εμφανίζεται αμέσως.	Ροζ προς κόκκινο	Απαλό κίτρινο προς πορτοκαλί
Το είδος <i>Providencia</i> sp. ενδέχεται να δημιουργήσει έναν απαλό ροζ δακτύλιο, αποτέλεσμα που θα πρέπει να θεωρηθεί θετικό.			
Συγκρίνετε τα LYS, ARG και ORN με το DCB. Αυτά τα βοθρία πρέπει να επικαλύπτονται με έλαιο για να είναι έγκυρα τα αποτελέσματα. Το πορφυρό χρώμα θεωρείται θετικό κατά τη σύγκριση με ένα γκρι βοθρίο DCB. Το γκρι χρώμα θεωρείται θετικό κατά τη σύγκριση με ένα κίτρινο βοθρίο DCB. Για τα μη ζυμωτικά, μια θετική εξέταση πρέπει να είναι αισθητά πιο πορφυρή από τον μάρτυρα βάσης. Αν ο μάρτυρας βάσης είναι πορφυρός, το μέσο βάσης έχει αλκαλοποιηθεί και τα LYS, ARG και ORN θα πρέπει όλα να καταγράφονται ως αρνητικά. Τα είδη <i>Achromobacter</i> και το <i>Ochrobactrum anthropi</i> τείνουν να έχουν αυτήν τη συμπεριφορά.			
LYS	Προσθέστε 1 σταγόνα χλωριούχου σιδήρου 10%. Το χρώμα εμφανίζεται αμέσως.	Πορφυρό προς γκρι	Κίτρινο
ARG		Πορφυρό	Μη ζυμωτικά: Άχρωμο προς γκρι
ORN			
TDA	Προσθέστε 1 σταγόνα χλωριούχου σιδήρου 10%. Το χρώμα εμφανίζεται αμέσως.	Οποιαδήποτε απόχρωση του καφέ	Κίτρινο προς πορτοκαλί
ESC		Ανοικτό καφέ προς μαύρο	Μπεζ προς άχρωμο
VP	Προσθέστε 1 σταγόνα KOH 40% και 1 σταγόνα α-ναφθόλης 5%. Περιμένετε τουλάχιστον 20 λεπτά για να εκδηλωθεί η αντίδραση.	Κόκκινο	Άχρωμο
Μερικά μη ζυμωτικά μπορεί να δημιουργήσουν ένα απαλό ροζ χρώμα μετά από 18 ώρες επώασης, αποτέλεσμα που θα πρέπει να θεωρηθεί αρνητικό.			
ONPG		Κίτρινο	Άχρωμο
Συγκρίνετε οποιοδήποτε βοθρίο ONPG φαίνεται διαυγές με το βοθρίο σετρίμιδης. Αν το ONPG εμφανίζει οποιοδήποτε κίτρινο χρώμα σε σύγκριση με το βοθρίο σετρίμιδης, καταγράψτε το ως θετικό.			
CIT		Μπλε προς μπλε-πράσινο	Πράσινο προς κίτρινο
MAL		Οποιαδήποτε απόχρωση του μπλε θεωρείται θετικό αποτέλεσμα	
TAR			
ACE			
CET		Ανάπτυξη	Απουσία ανάπτυξης
OF/G		Κίτρινο	Αν η βάση OF έχει πράσινο χρώμα: Πράσινο προς μπλε
		Κίτρινο προς πράσινο	Αν η βάση OF έχει μπλε προς μπλε-πράσινο χρώμα: Μπλε
Συγκρίνετε το βοθρίο OF/G με τον μάρτυρα βάσης OF.			
NIT	Προσθέστε 1 σταγόνα σουλφανλικού οξέος 0,8% και, στη συνέχεια, 1 σταγόνα N, N-διμεθυλο-α-ναφθυλαμίνης 0,5%. Περιμένετε τουλάχιστον 5 λεπτά για να εκδηλωθεί η αντίδραση.	Κόκκινο	Άχρωμο προς απαλό ροζ
P ₄		Ανάπτυξη (Ανθεκτικός)	Μη ανάπτυξη (Ευαίσθητο)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Για αναγνώριση πλακών μόνο με τα συστήματα autoSCAN-4 και WalkAway.		

2. Αρχές αντιδράσεων ταυτοποίησης

Ζύμωση υδατανθράκων (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Η ζύμωση ενός συγκεκριμένου υδατάνθρακα προκαλεί δημιουργία οξέος και η μείωση του pH ανιχνεύεται από δείκτη ερυθρού της φαινόλης.

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

Υδρόθειο (H₂S): Το αέριο υδρόθειο παράγεται από το θειοθειικό νάτριο και αντιδρά με τα ιόντα του σιδήρου στο θρεπτικό υλικό, με αποτέλεσμα την παραγωγή μαύρου ιζήματος.

Ινδόλη (IND): Ο μεταβολισμός της τρυπτοφάνης έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ινδόλης, η οποία ανιχνεύεται με την προσθήκη αντιδραστήριου του Kovacs. Εάν υπάρχει ινδόλη, αναπτύσσεται κόκκινο χρώμα.

Λυσίνη, αργινίνη, ορνιθίνη (LYS, ARG, ORN): Η αποκαρβοξυλίωση αυτών των αμινοξέων έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό βασικών αμινών, οι οποίες ανιχνεύονται με τον δείκτη πορφυρού της βρωμοκρεζόλης.

Απαμίνωση της τρυπτοφάνης (TDA): Τα βακτήρια που έχουν την ικανότητα απαμίνωσης της τρυπτοφάνης παράγουν ινδολοπυροσταφυλικό οξύ, το οποίο αντιδρά με το κιτρικό σιδηρούχο αμμώνιο στο θρεπτικό υλικό μετά από την προσθήκη χλωριούχου σιδήρου, με αποτέλεσμα την παραγωγή καφέ χρώματος.

Υδρόλυση της εσκουλίνης (ESC): Η υδρόλυση της εσκουλίνης ανιχνεύεται με το κιτρικό σιδηρούχο αμμώνιο που βρίσκεται στο θρεπτικό υλικό και αντιδρά με τα προϊόντα της υδρόλυσης, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό μαύρου ιζήματος.

Voges-Proskauer (VP): Παράγεται ακετοΐνη από το πυροσταφυλικό νάτριο, πράγμα που υποδεικνύεται από τον σχηματισμό κόκκινου χρώματος μετά από την προσθήκη 40% υδροξειδίου του καλίου και 5% α-ναφθόλης.

Γαλακτοσιδάση (ONPG): Η β-γαλακτοσιδάση υδρολύει τον ορθο-νιτροφαινόλο-β-D-γαλακτοπυρανοζίτη και έτσι απελευθερώνεται ορθο-νιτροφαινόλη κίτρινου χρώματος.

Κιτρικό, μηλονικό, ακεταμίδιο, τρυγικό (CIT, MAL, ACE, TAR): Η χρήση αυτών των υποστρωμάτων ως μοναδικής πηγής άνθρακα για μεταβολισμό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του pH, που ανιχνεύεται από τον δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης.

Οξειδωση-ζύμωση (OF/G): Η οξειδωση της γλυκόζης έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό οξέος και η μείωση του pH ανιχνεύεται με τον δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης. Η OF/G συγκρίνεται με την OF/B (βάση) για να προσδιοριστεί αν έχει παραχθεί τυχόν οξύ.

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

Σετρίμιδη (CET): Η ανοχή στη σετρίμιδη αποδεικνύεται με ανάπτυξη στον ζωμό Mueller-Hinton, ο οποίος είναι εμπλουτισμένος με σετρίμιδη.

Πενικιλίνη, καναμυκίνη, κολιστίνη, κεφαλοθίνη, νιτροφουραντοΐνη, τομπραμυκίνη (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Η ανοχή σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις αυτών των αντιμικροβιακών παραγόντων αποδεικνύεται με ανάπτυξη.

3. Ταυτοποίηση οργανισμών

Το Biotype Lookup Program, που βρίσκεται στο Σύστημα διαχείρισης πληροφοριών LabPro και στον ιστότοπο της Beckman Coulter, χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση άγνωστων οργανισμών που εξετάζονται. Το πρόγραμμα παραθέτει την ταυτοποίηση οργανισμών και τις σχετικές πιθανότητες, ξεκινώντας από την υψηλότερη πιθανότητα, έως το αθροιστικό σύνολο 99,9%.

Εάν ο προκύπτων αριθμός βιότυπου αντιστοιχεί σε «Very Rare Biotype» (Πολύ σπάνιος βιότυπος), ανατρέξτε στο λογισμικό LabPro [Utilities (Βοηθητικά προγράμματα)>System (Σύστημα)>Biotype Lookup (Αναζήτηση βιότυπου)], στο Biotype Lookup Program στον ιστότοπο της Beckman Coulter ή απευθυνθείτε στον αντιπρόσωπο ή διανομέα της Beckman Coulter στην περιοχή σας.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

1. Ο *Haemophilus* και άλλα Gram-αρνητικά βακτήρια με σύνθετες θρεπτικές ανάγκες δεν αναπτύσσονται σε ζωμό Mueller-Hinton που δεν φέρει συμπλήρωμα εμπλουτιστικών της ανάπτυξης.
2. Οι διαδικασίες που περιγράφονται στο παρόν είναι κατάλληλες μόνο για προαιρετικά αναερόβιους και αερόβιους Gram-αρνητικούς βακίλλους.
3. Ενδέχεται να απαιτηθούν πρόσθετες εξετάσεις προκειμένου να προσδιοριστεί η τελική ταυτοποίηση, όταν διαπιστώνεται χαμηλή πιθανότητα (<85%) ταυτοποίησης (ανατρέξτε στο Biotype Lookup Program της MicroScan ή στο Εγχειρίδιο Microbiology Manual).
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.

- Οι αριθμοί βιότυπων δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση φαινότυπων στελεχών, τα οποία έχουν απομονωθεί από διάφορα δείγματα του ίδιου ασθενούς.
- Οι αρμόδιες υγειονομικές αρχές θα πρέπει να ενημερώνονται σχετικά με όλα τα απομονωμένα στελέχη που έχουν πιθανώς ταυτοποιηθεί ως *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* ή *F. tularensis*. Για την επιβεβαίωση των απομονωμένων στελεχών αυτών των βακτηρίων ενδέχεται να απαιτούνται ειδικές εξετάσεις που διατίθενται μόνο σε εργαστήρια αναφοράς ή σε κρατικά υγειονομικά εργαστήρια.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Μπλε, μπλε-πράσινο, πράσινο	Μπλε, μπλε-πράσινο	Μπλε, μπλε-πράσινο, πράσινο	Μπλε, μπλε-πράσινο, πράσινο
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Γκρι προς κίτρινο	Γκρι προς κίτρινο/γκρι	Κίτρινο	Δ/Ι
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Δ/Ι
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	Δ/Ι
To ₄ ²	-	-	-	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. Το *P. aeruginosa* ATCC 27853 ενδέχεται να παραγάγει ένα αχνό ροζ χρώμα στη VP μετά από 18 ώρες επώασης, το οποίο θα πρέπει να ερμηνευτεί ως αρνητικό.

4. Εάν οι πλάκες επωαστούν για διάστημα μεγαλύτερο από 18 ώρες, μπορεί να δημιουργηθεί ασθενής θετική αντίδραση με το *E. coli* ATCC 25922.

5. Ενδέχεται να απαιτούνται 48 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. Ως εκ τούτου, οι ταυτοποιημένοι οργανισμοί ενδέχεται να διαφέρουν από τους οργανισμούς που παρατίθενται στον πίνακα ΠΕ. Η καταλληλότητα της απόδοσης του προϊόντος πρέπει να προσδιορίζεται μέσω της σύγκρισης των αποτελεσμάτων των εξετάσεων και όχι βάσει της ταυτοποίησης.

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Πίνακας πρόσθετων εξετάσεων

Οργανισμός	Υπόστρωμα	Αναμενόμενο αποτέλεσμα
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotidis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Ταυτοποίηση αποξηραμένων Gram-αρνητικών - Βελτιστοποιημένος ΠΕ ταυτοποίησης ¹					
Οργανισμός ΠΕ	Αριθ. ATCC	Βασικό Υπόστρωμα-Δείκτης	Αναμενόμενο αποτέλεσμα	Αποτέλεσμα εκτός προδιαγραφών	Ασταθές υπόστρωμα
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	NAI
<i>E. coli</i>	25922	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).⁴ 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.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Οι αξιώσεις απόδοσης για τις αποξηραμένες πλάκες ταυτοποίησης gram αρνητικών οργανισμών της MicroScan καθιερώθηκαν σε μια πολυκεντρική μελέτη. Κλινικά απομονωμένα στελέχη και αποθηκευμένα στελέχη εξετάστηκαν σε αποξηραμένη πλάκα ταυτοποίησης αρνητικών τύπου 2 και με συμβατικές μεθοδολογίες σωλήνα για την απεικόνιση του τύπου βακτηριακού πληθυσμού που αναμένεται σε κλινικό εργαστήριο ρουτίνας. Για μια πλήρη λίστα των οργανισμών που περιλαμβάνονται στη βάση δεδομένων, ανατρέξτε στην ενότητα Αποξηραμένες (συμβατικές) πλάκες αρνητικών: gram αρνητικοί αερόβιοι βάκιλοι του Εγχειριδίου πληροφοριών μικροβιολογικών εξετάσεων.

Ποσοστιαία συμφωνία με τη μέθοδο αναφοράς

Αρ. εξετασθέντων	Αρ. ορθών ταυτοποιήσεων	Ποσοστό % ορθών ταυτοποιήσεων
609	593	97,4

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ

Η αναπαραγωγιμότητα καθορίζεται από την εξέταση πολλαπλών αντιγράφων υπό διαφορετικές συνθήκες (π.χ. παρτίδες πλακών, ημέρες, όργανα, χρήστες). Αυτό μπορεί να περιλαμβάνει στελέχη ΠΕ, κλινικά απομονωμένα στελέχη ή και τα δύο. Η συνολική συμφωνία ήταν $\geq 95\%$.

ΔΗΛΩΣΗ ΕΓΓΥΗΣΗΣ

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

ΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ ΧΡΗΣΤΗ

Κάθε σοβαρό περιστατικό που προκύπτει σε σχέση με τις πλάκες MicroScan πρέπει να αναφέρεται στην Beckman Coulter και την αρμόδια αρχή του κράτους μέλους όπου είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ
AA	2022. május	Αρχική έκδοση
AB	Δεκέμβριος 2022	Ενημερώθηκαν: Αναπαραγωγιμότητα

Υπόμνημα συμβόλων

Τα ακόλουθα σύμβολα ενδέχεται να χρησιμοποιούνται στη σήμανση προϊόντων μικροβιολογίας της Beckman Coulter.

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, παράγραφος 5.4.2
	Χρήση έως	Υποδεικνύει την ημερομηνία μετά το πέρας της οποίας δεν πρέπει να χρησιμοποιείται η ιατρική συσκευή.	ISO 15223-1, παράγραφος 5.1.4
	Αριθμός παρτίδας	Υποδεικνύει τον αριθμό παρτίδας του κατασκευαστή ώστε να είναι δυνατή η αναγνώριση της παρτίδας.	ISO 15223-1, παράγραφος 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, παράγραφος 5.1.3
	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, παράγραφος 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, παράγραφος 5.3.7
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Υποδεικνύει ότι ο χρήστης είναι απαραίτητο να συμβουλευτεί τις οδηγίες χρήσης.	ISO 15223-1, παράγραφος 5.4.3
	Σήμανση CE	Ρυθμιστική σήμανση ευρωπαϊκής συμμόρφωσης	Δ/Ι
	Περιεχόμενα	Δ/Ι	Δ/Ι
	Περιεχόμενα (συσκευασία)	Αντιμικροβιακός παράγοντας (σύντηξη)	Δ/Ι
	Περιεχόμενα (συσκευασία)	Υπόστρωμα ταυτοποίησης (σύντηξη)	Δ/Ι
	Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας	Υποδεικνύει ένα δελτίο δεδομένων ασφαλείας.	Δ/Ι
	Made in USA	Δ/Ι	Δ/Ι
	Χρήση μόνο για εξαγωγή	Δ/Ι	Δ/Ι
	Ογκος 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, παράγραφος 5.3.1
	Αυτή η πλευρά προς τα πάνω	Υποδεικνύει τη σωστή όρθια θέση της συσκευασίας	ISO 7000: 0623
	Πληροφορίες μόνο για τις ΗΠΑ	Υποδεικνύει πληροφορίες που απαιτούνται μόνο για προϊόντα που προορίζονται για πώληση στις ΗΠΑ.	Δ/Ι
	Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή	Αναγνωρίζεται από τον FDA των ΗΠΑ ως εναλλακτική της σήμανσης «Προσοχή: Η ομοσπονδιακή νομοθεσία επιτρέπει την πώληση αυτής της συσκευής μόνον από ιατρό ή κατόπιν εντολής ιατρού»	21CFR 801.109(β)(1)

Υπόμνημα συμβόλων			
Σύμβολο	Τίτλος συμβόλου	Περιγραφή προτύπου	Πρότυπο
	Βιολογικοί κίνδυνοι	Υποδεικνύει ότι υπάρχουν πιθανοί βιολογικοί κίνδυνοι σχετιζόμενοι με το ιατροτεχνολογικό προϊόν. Σημείωση: Αυτό το σύμβολο δεν θα πρέπει να συγχέεται με το σύμβολο «βιολογικά επικίνδυνο υλικό» που προορίζεται για χρήση στον χώρο εργασίας.	ISO 15223-1, παράγραφος 5.4.1
	Κίνδυνος	Δ/Ι	Δ/Ι
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
革兰氏阴性鉴定 2 型操作手册，LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

预期用途

MicroScan 阴性鉴定检测板 2 型是一种 体外诊断医疗器械，可从分离的菌落中定性鉴定出快速生长的需氧和兼性厌氧革兰氏阴性杆菌的具体菌种。孵育和结果确定方法有多种，其中包括在 WalkAway 仪器上进行完全自动化操作、非自动化离线孵育后在 autoSCAN-4 仪器上读取结果，或者非自动化离线孵育后手动读取结果并可选择将结果输入 LabPro 数据管理系统。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

摘要和原理

使用标准化微生物悬浮液接种和再水化检测板之后，在 35°C 下孵育至少 16 小时。采用改良的常规和显色测试鉴定发酵性和非发酵性革兰氏阴性杆菌。依据在 35°C 条件下孵育 16-42 小时后检测到的 pH 值变化、底物利用情况以及在存在抗菌剂的环境中的生长情况鉴定。¹

阴性鉴定 2 型测试组合			
底物	缩写	底物	缩写
葡萄糖	GLU	乙酰甲基甲醇	VP
蔗糖	SUC	柠檬酸盐	CIT
山梨醇	SOR	丙二酸盐	MAL
棉籽糖	RAF	o-硝基苯基-β-D-半乳糖苷	ONPG
鼠李糖	RHA	酒石酸盐	TAR
阿拉伯糖	ARA	乙酰胺	ACE
肌醇	INO	溴棕三甲铵	CET
核糖醇	ADO	OF 葡萄糖	OF/G
蜜二糖	MEL	OF 基准	OF/B
脲	URE	脱羧酶培养基	DCB
硫化氢	H ₂ S	硝酸盐	NIT
吲哚	IND	青霉素 G 4 µg/mL ¹	P ₄
赖氨酸	LYS	卡那霉素 4 µg/mL ¹	K ₄
精氨酸	ARG	粘菌素 4 µg/mL ¹	Cl ₄
鸟氨酸	ORN	呋喃妥因 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
色氨酸脱氨酶	TDA	头孢菌素 8 µg/mL ¹	Cf ₈
七叶苷	ESC	妥布霉素 4 µg/mL ¹	To ₄

1. 用于鉴定的抗菌剂。

临床意义

鉴定测试结果可与其他实验室结果和临床指标结合使用，用于优化有症状患者的疗法。

警告和注意事项

- 仅供 体外诊断使用。
- 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。
- 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。
- 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。
- 仅供一次性使用。除非另有说明，否则所有 MicroScan 检测板和耗材（例如盖盘）都不应重复使用。
- 本品含有来自脱水微生物培养基的动物源性材料。处理本品时应遵守一般安全保护指南。

储存

干式革兰氏阴性测试组合必须储存于 2-25°C 温度下。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

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。

标本采集和制备

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适当的标本以及将适当的标本放置于原代分离培养基上。²

提供的材料

阴性鉴定 2 型检测板 (B1017-27)

Procedural and Quality Control Manual (程序和质量控制手册)

所需但未提供的材料

5% α -萘酚，30 mL (B1010-42A)

10% 氯化铁，30 mL (B1010-48A) 或 250 mL (B1015-48)

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

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

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

0.5 McFarland 浊度标准液

100 μ L 移液器

条码标签纸 (B1018-129)

盖盘 (B1010-56B)

一般实验室设备

柯氏 (Kovac's) 试剂，30 mL (B1010-41A) 或 250 mL (B1015-41)

手动读板工作表 (用于记录手动读取结果)

微量稀释法观察器

矿物油，60 mL (B1010-40)

矿物油，250 mL (B1010-40A)

氧化酶试剂

质量控制微生物 (请参阅本手册的“质控”部分)

质量控制报表

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

一次性材料

0.85% 高压灭菌生理盐水，3 mL

一次性无菌移液器吸头

Inoculator-D 套件 (B1013-4)

接种液，3 mL (B1015-2)

含 PLURONIC® 的接种液，25 mL (B1015-7)*

Prompt® 接种系统 (B1026-10D)**

密封条 (B1010-51)

WalkAway 盘盖 (B1018-18)

*PLURONIC® 表面活性剂。BASF Corporation, Parsippany, NJ USA 的注册商标。

**3M, St. Paul, MN USA

方法

检测板的制备

1. 从储存处取出要用的检测板。如包装已破损（开封、刺破或撕裂），请勿使用。
2. 剪开包装袋并取出检测板。如果是储存于冰箱内，则立即将检测板从铝箔包装袋内取出。
3. **检测板如出现下列任何状况，请勿使用：**
 - A. 没有干燥剂或干燥剂破裂。
 - B. 测试组合孔脱色（例如 DCB、各种抗菌剂）。
4. 在再水化之前，等待检测板恢复至室温。可将检测板叠放在一起，上面用干净的盖盘覆盖。所有检测板一经打开则应于当天使用，否则应丢弃。

接种物制备

CLSI 建议通过菌落计数来定期检查接种物密度。请参阅 CLSI 文件 M07 第 11 版，了解菌落计数推荐方法。预期 *E. coli* ATCC 25922 最终测试浓度的结果接近 5×10^5 CFU/mL。³ 用户应格外注意接种物的制备，特别是通过与合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。

1. 浊度标准方法 - 主要接种方法

建议使用浊度标准技术对所有需氧革兰氏阴性杆菌进行直接接种。

- 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。
- C. 盖紧盖子，涡旋振荡悬浮液 2-3 秒。
- D. 最终浊度应等于 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，范围为 0.08 ± 0.02 。
- E. 吸取 0.1 mL (100 μ L) 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。

2. Prompt 系统

Prompt 系统用于接种革兰氏阴性杆菌。有关 Prompt 系统的正确使用方法，请参考 Prompt Inoculation Procedural Manual（Prompt 接种操作手册）。

注释：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敏感性和鉴定测试结果。

氧化酶测试

在接种检测板前先进行氧化酶测试。在工作表的相应位置或按仪器要求记录结果。氧化酶试验结果可用于区分微生物类群和早期报告非发酵菌（如 *Acinetobacter baumannii* 复合体）。对于 WalkAway 系统，建议在打印条码前输入氧化酶试验结果。某些非发酵菌可能仍然需要培养至 42 小时，具体取决于生长情况。推荐的氧化酶试剂是四甲基对苯二胺二盐酸盐。

检测板再水化/接种

使用带有 Inoculators-D (B1013-4) 的 RENOK 系统进行再水化和接种。有关使用说明，请参阅 RENOK Operator's Manual（RENOK 操作手册）。如果使用其他系统，则使用 $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ 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。为保证受检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于适当的琼脂板上，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。

生化试剂覆盖

1. 使用滴瓶，用至少 3 滴矿物油覆盖 GLU、URE、H₂S、LYS、ARG、ORN 和 DCB 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 系统（以及经升级带有矿物油自动覆盖功能的 WalkAway 系统）可自动向相应的孔中滴入矿物油。

密封条

仅针对氧化酶阳性革兰氏阴性微生物，在 CIT、MAL、ONPG、TAR、ACE、CET、OF/G、OF/B 和 DCB 孔上贴上密封条。带上的四分之一英寸定位孔应对准 DCB 孔。对于 WalkAway 系统，用盖代替密封条。

孵育

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. 在每组检测板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. 将检测板放入无 CO₂ 的孵育箱中，在 35°C 的温度下至少孵育 16 小时。

读取检测板

可以采用手动方式判读检测板，并将结果记录在“手动读取检测板工作表”或 MicroScan 仪器 (autoSCAN-4 和 WalkAway 系统) 上。关于如何使用 MicroScan 仪器读取检测板，请参阅操作指南。

- 1. 孵育 16-20 小时之后，将测试组合从孵育箱中取出。
- 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孔呈现混浊时，才能进行测试组合的读取。如果对照孔浑浊，或者生长孔中未出现生长，则不要读取测试组合。浑浊可能表现为：整个反应孔中呈现白色混浊、反应孔中央出现一个白色团状菌落、或者整个反应孔中有细粒状的生长。生长不充分或无生长表现为反应孔中呈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 CET 和用于鉴定的抗菌剂 (Cl₄、Cf₈、P₄、K₄、Fd₆₄、To₄) 应在黑色背景 (非直接照明) 下读取之外，所有鉴定底物均应在白色背景下读取。
 - B. 始终在 16-24 小时时读取以下底物：GLU、SUC、SOR、RAF、RHA、ARA、INO、ADO、MEL、P₄、K₄、Cl₄、Fd₆₄、Cf₈、To₄。
 - C. 如果符合下列任一项：
 - a. GLU 或 SUC 或 SOR 阳性，或者
 - b. ARG 阳性且 OF/G 阳性，或者
 - c. ARG 阳性且 CET 阳性，或者
 - d. LYS 阳性，或者
 - e. ORN 阳性，或者
 - f. OXI 阴性且 OF/G 阳性且 Fd₆₄ 阳性且 MAL 阳性。

然后添加试剂并在孵育 16-24 小时后读取剩余的底物。如果以上情况都不满足，另外孵育测试组合 24 小时，之后再添加试剂并读取剩余的底物。

- D. 若再次孵育后，待测微生物仍未显示反应活性，检查是否待测微生物已在酚红碳水化合物中生长 (特别是 Mueller-Hinton 生长对照生长缓慢或无生长时)。如果在酚红碳水化合物中无生长，则应该考虑是否是一种苛养微生物 (如嗜盐 *Vibrio* 菌种)。应重复进行革兰氏染色，以证实其为革兰氏阴性菌。
 - a. 如果怀疑一种临床症状明显的疾病是由嗜盐 *Vibrio* 属引起，将数个菌落在 3.0 mL 无菌 0.85% 盐水中乳化，重新测试，而且还应该按照软件的建议进行其它测试，包括在盐中的生长测试。最终浊度应等于 0.5 McFarland 浊度标准的值。可使用 MicroScan 浊度计获得相等的浊度，范围为 0.08 ± 0.02。使用 RENOK，用 25 mL 含有 PLURONIC 的、未接种的接种液再水化测试组合。用一个无菌移液管，将一滴 (45-50 µL) 盐悬浮液添加到每个鉴定孔中，包括生长孔、Cl₄、Cf₈、To₄、P₄、K₄ 和 Fd₆₄ 孔。应遵循所有其他测试组合处理步骤。
- E. 在读取结果前，如下所述加入试剂：
 - a. 向 VP 孔中加入 1 滴 40% 氢氧化钾 (KOH) 和 1 滴 5% α-萘酚。至少等待 20 分钟以进行 VP 反应。
 - b. 向 TDA 孔中加入 1 滴 10% 氯化铁。将立刻显色。
 - c. 向 IND 孔中加入 3 滴 MicroScan 柯氏 (Kovac's) 试剂。将立刻显色。
注释：MicroScan 柯氏 (Kovac's) 试剂是供 MicroScan 仪器使用的专用配方。若手动读取测试组合，则仅需一滴即可。
 - d. 向 NIT 孔中加入 1 滴 0.8% 磺胺酸，随后加入 1 滴 0.5% N, N-二甲基-α-萘胺。等待至少 5 分钟以进行 NIT 反应，之后再读取结果。
- F. 请参考“结果”部分，了解对结果的生物化学判读。

结果

1. 生物化学判读

孔	试剂	阳性	阴性
GLU		仅呈现深黄色	橙色到红色
一些非发酵菌可能会产生金色，这应视为阴性。			

孔	试剂	阳性	阴性
SUC		黄色到黄色/橙色	橙色到红色
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		洋红到粉红	黄色、橙色或浅粉色
H ₂ S		黑色沉淀物或黑色钮扣	没有变黑
IND	加入 3 滴 MicroScan 柯氏 (Kovac's) 试剂 (如果测试组合肉眼可读数, 则加入一滴)。将立即出现颜色。	粉红色到红色	浅黄到橙色
<i>Providencia</i> 属出现淡红色, 则应认为是阳性。			
将 LYS、ARG 和 ORN 与 DCB 比较。这些反应孔必须用矿物油覆盖以获得有效结果。与灰色 DCB 孔相比, 紫色应视为阳性。与黄色 DCB 孔相比, 灰色应视为阳性。对于非发酵菌, 阳性测试结果与基准对照组相比, 必须明显地呈现紫色。如果基准对照组为紫色, 基本培养基已成碱性, LYS、ARG 和 ORN 应当被记录为阴性。 <i>Achromobacter</i> 属与 <i>Ochrobactrum anthropi</i> 易发生此种情况。			
LYS		紫色至灰色	黄色
ARG			非发酵菌:
ORN		紫色	无色至灰色
TDA	加入 1 滴 10% 的氯化铁溶液。将立即出现颜色。	任何色度的棕色	黄色到橙色
ESC		淡褐色至黑色	米色至无色
VP	加入 1 滴 40% 氢氧化钾和 1 滴 5% α-萘酚。等待至少 20 分钟以进行反应。	红色	无色
		部分非发酵菌在孵育 18 小时后可能生成淡粉色, 此时应视为阴性。	
ONPG		黄色	无色
		将任何看起来清澈的 ONPG 孔与溴棕三甲铵孔相比较。与溴棕三甲铵孔相比, 如果 ONPG 呈现出任何黄色, 记录为阳性。	
CIT		蓝色到蓝绿色	绿色到黄色
MAL		任何色度的蓝色都应视为阳性	
TAR			
ACE			
CET		生长	无生长
OF/G		黄色	如果 OF 基准呈现绿色: 绿色到蓝色
		黄色到绿色	如果 OF 基准是蓝色到蓝绿色: 蓝色
		将 OF/G 孔与 OF 基准对照组对比。	
NIT	加入 1 滴 0.8% 磺胺酸, 随后加入 1 滴 0.5% N, N-二甲基-α-萘胺。至少等待 5 分钟以进行反应。	红色	无色到淡粉色
P ₄		生长 (耐药)	不生长 (敏感)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	仅用于 autoSCAN-4 和 WalkAway 系统测试组合的确认。		

2. 鉴定反应原理

糖发酵 (GLU、SUC、SOR、RAF、RHA、ARA、INO、ADO、MEL)：某一特定糖类化合物发酵产生酸，从而导致 pH 值下降，可通过酚红指示剂检测。

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。

硫化氢 (H₂S)：硫化氢气体由硫代硫酸钠产生并与铁离子在培养基中反应生成黑色沉淀物。

吲哚 (IND)：色氨酸代谢后生成吲哚，这可通过添加柯氏 (Kovac's) 试剂加以检测。如存在吲哚，会变成红色。

赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸 (LYS、ARG、ORN)：这些氨基酸脱羧后可形成碱性胺，可通过溴甲酚紫指示剂检测。

色氨酸脱氨酶 (TDA)：细菌能够使色氨酸脱氨而产生吲哚丙酮酸，在添加氯化铁后与柠檬酸铁铵在培养基中反应产生褐色。

七叶苷水解 (ESC)：培养基中七叶苷水解可通过柠檬酸铁铵检测，因为其水解产物可与之反应生成黑色沉淀物。

乙酰甲基甲醇 (VP)：丙酮酸钠可产生乙偶姻，添加 40% 氢氧化钾和 5% α-萘酚后可产生红色以表明其形成。

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

柠檬酸盐、丙二酸盐、乙酰胺、酒石酸盐 (CIT、MAL、ACE、TAR)：将这些底物作为代谢中的唯一碳源时，会导致 pH 上升，可通过溴百里酚蓝指示剂检测。

氧化-发酵 (OF/G)：葡萄糖氧化后可生成酸并使 pH 降低，可通过溴百里酚蓝指示剂检测。OF/G 会与 OF/B (基准) 比较以确定是否有酸生成。

硝酸盐 (NIT)：微生物可使硝酸盐还原为亚硝酸盐，这可通过添加 N,N-二甲基-α-萘胺和磺胺酸加以检测。如果生成红色，则表明存在亚硝酸盐。

溴棕三甲铵 (CET)：可通过在加入溴棕三甲铵的 Mueller-Hinton 液体培养基中的生长情况判断是否对溴棕三甲铵产生耐受性。

青霉素、卡那霉素、粘菌素、头孢菌素、呋喃妥因、妥布霉素 (P₄、K₄、Cl₄、Cf₈、Fd₆₄、To₄)：如果出现生长，则证明对这些特定浓度的抗菌剂具有耐药性。

3. 微生物鉴定

可通过 LabPro 信息管理系统和贝克曼库尔特公司网站中的 Biotype Lookup Program 鉴定未知测试微生物。程序按最高概率依次列出微生物鉴定结果和相对概率，累计总概率最高可达到 99.9%。

如果出现的生物型码结果为“Very Rare Biotype (极罕见生物型)”，请查阅 LabPro 软件说明 (依次选择 Utilities (实用程序) > System (系统) > Biotype Lookup (生物型查找))，或使用贝克曼库尔特公司网站上的 Biotype Lookup Program，或咨询您的贝克曼库尔特代表或分销商。

程序的局限性

1. *Haemophilus* 和其它苛养革兰氏阴性菌在未添加生长富集因子的 Mueller-Hinton 液体培养基中不生长。
2. 此处所述流程仅适用于兼性厌氧和需氧革兰氏阴性杆菌。
3. 当获得低概率 (<85%) 的鉴定结果时，可能需要进一步的测试以确定最终鉴定结果 (参考 MicroScan Biotype Lookup Program (MicroScan 生物型查找程序) 或者 Microbiology Manual (微生物手册))。
4. 需要由受过专业培训的临床工作人员判读测试结果，这些专业人员需综合运用其判断、知识和所需的其他确证试验，然后才能接受微生物鉴定结果。
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. 应该向公共卫生官员报告推测为以下细菌的所有分离株：*B. anthracis*、*Y. pestis*、*B. mallei*、*B. pseudomallei* 或 *F. tularensis*。要确认这些细菌分离株，可能需要进行只有在参考实验室或公共卫生实验室才可实施的专门测试。

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。^{*}

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-

^{*}美国标准菌种保藏中心，地址：Manassas, VA USA

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	蓝色、蓝绿色、绿色	蓝色、蓝绿色	蓝色、蓝绿色、绿色	蓝色、蓝绿色、绿色
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	灰至黄	灰至黄-灰	黄色	不适用
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	不适用
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	不适用
To ₄ ²	-	-	-	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. *P. aeruginosa* ATCC 27853 经过 18 小时孵育后，在 VP 中产生淡粉色，应判读为阴性。

4. 使用 *E. coli* ATCC 25922 时，如果孵育测试组合超过 18 小时，可能会得到弱阳性反应。

5. 可能需要孵育 48 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 表中列出的内容不同。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>P. stuarti</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

干式革兰氏阴性菌鉴定 - 优化鉴定 QC 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>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	是
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	是

1. 提供质量控制主要指示剂以便根据 CLSI 文件 M50-A 实施优化 QC。⁴在实施优化 QC 程序前，请参阅 M50-A 文件了解详细信息，并由适当监管机构 and 检查小组检查以确认其可接受性。

性能特征

在一项多中心研究中，确立了 MicroScan 干式革兰氏阴性鉴定测试组合的性能。用干式革兰氏阴性鉴定 2 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，用以说明在常规临床实验室中需要检测的细菌种群种类。请参阅 Microbiology Information Manual (微生物信息手册) 的 Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli (干式 (常规) 阴性测试组合：革兰氏阴性需氧杆菌) 部分，以查看数据库中包括的微生物的完整列表。

与参照方法的一致百分比

测试菌株数	正确鉴定数量	正确鉴定 %
609	593	97.4

再现性

再现性是通过在不同条件下（例如，检测板批次、天数、仪器、用户）重复多次测试而确立。这可能包括 QC 菌株和/或临床分离菌株。总体一致性 ≥ 95%。

保修声明

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

用户注意事项

如果发生任何 MicroScan 检测板有关的严重事件，应向贝克曼库尔特公司以及用户和/或患者所在成员国的主管机构报告。

修订历史

修订	日期	描述
AA	2022 年 5 月	初次发布
AB	2022 年 12 月	更新内容： 可重复性

符号注解

贝克曼库尔特微生物学产品标签中可能使用以下符号。

符号注解			
符号	符号名称	标准说明	标准
	请勿重复使用	指示医疗设备为一次性用品，或者适用于在单次手术中为单名患者使用。	ISO 15223-1；第 5.4.2 条
	使用期限	指示医疗设备的最后使用日期。	ISO 15223-1；第 5.1.4 条
	批号	指示制造商的批次代码，以用于标识批次。	ISO 15223-1；第 5.1.5 条
	目录号	指示制造商的产品目录号，以用于识别医疗设备。	ISO 15223-1；第 5.1.6 条
	制造商	根据欧盟指令 90/385/EEC、93/42/EEC 和 98/79/EC 的规定指示医疗设备的制造商。	ISO 15223-1；第 5.1.1 条
	生产日期	指示医疗设备的生产日期。	ISO 15223-1；第 5.1.3 条
	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；第 5.5.5 条
	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；第 5.3.7 条
	请参阅使用说明	指示用户需要参阅使用说明。	ISO 15223-1；第 5.4.3 条
	CE 标志	欧盟 CE 认证法规标志	不适用
	内容物	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；第 5.3.1 条
	此面向上	指示正确的直立位置	ISO 7000：0623

符号注解			
符号	符号名称	标准说明	标准
	仅适用于美国的信息	表示仅适用于拟在美国销售之产品的信息。	不适用
	仅凭处方使用	经美国 FDA 批准可替代以下声明：“注意：联邦法律规定本设备仅能由持有执照的执业医师或根据其处方销售”	21CFR 801.109(b)(1)
	生物学有害物风险	指示医疗设备伴随潜在生物学有害物风险。注释：不得将此符号与用于工作场所的“生物危害”标志相混淆。	ISO 15223-1；第 5.4.1 条
	危险	不适用	不适用
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“

Gramneigiamųjų organizmų ID 2 procedūrų vadovas, „LabPro“ ≥ 5.0 versija.

REF B1017-27

NAUDOJIMO PASKIRTIS

„MicroScan“ 2 tipo neigiama ID plokštelė yra *in vitro* diagnostikos medicinos priemonė, skirta sparčiai augančioms aerobinėms ir fakultatyvinėms anaerobinėms gramneigiamosioms baciloms iš izoliuotų kolonijų kokybiškai nustatyti rūšies lygiu. Inkubavimo ir rezultatų nustatymo metodai apima visiškai automatizuotą inkubavimą prietaisuose „WalkAway“ arba neautomatizuotą inkubavimą ne prietaise, rezultatus skaitant prietaisuose „autoSCAN-4“ arba rankiniu būdu, turint galimybę įvesti rezultatus į duomenų tvarkymo sistemą „LabPro“.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

SANTRAUKA IR PRINCIPAS

Standartizuota organizmo suspensija inokuliuotos ir rehidratuotos plokštelės ne trumpiau kaip 16 valandų inkubuojamos 35 °C temperatūroje. Modifikuoti standartiniai ir chromogeniniai tyrimai naudojami fermentuojančioms ir nefermentuojančioms gramneigiamosioms baciloms identifikuoti. Identifikacija pagrįsta pH pokyčių aptikimu, substratų naudojimu ir augimu esant antimikrobinėms medžiagoms, po 16–42 valandų inkubavimo 35 °C temperatūroje.¹

Neigiamoji ID 2 tipo plokštelė			
Substratai	Santr.	Substratai	Santr.
Gliukozė	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sacharozė	SUC	Citratas	CIT
Sorbitolis	SOR	Malonatas	MAL
Rafinozė	RAF	o-nitrofenil-β-D-galaktopiranozidas	ONPG
Ramnozė	RHA	Tartratas	TAR
Arabinozė	ARA	Acetamidas	ACE
Inozitolis	INO	Cetrimidas	CET
Adonitolis	ADO	OF gliukozė	OF/G
Melibiozė	MEL	OF bazė	OF/B
Šlapalas	URE	Dekarboksilazės bazė	DCB
Vandenilio sulfidas	H ₂ S	Nitratas	NIT
Indolas	IND	Penicilinas G 4 µg/ml ¹	P ₄
Lizinas	LYS	Kanamocinas 4 µg/ml ¹	K ₄
Argininas	ARG	Kolistinas 4 µg/ml ¹	Cl ₄
Ornitas	ORN	Nitrofurantoinas 64 µg/ml ¹	Fd ₆₄
Triptofano deaminazė	TDA	Cefalotinas 8 µg/ml ¹	Cf ₈
Eskulinas	ESC	Tobramocinas 4 µg/ml ¹	To ₄

1. Identifikuojant naudojamos antimikrobinės medžiagos.

KLINIKINĖ SVARBA

Identifikavimo tyrimo rezultatai kartu su kitais laboratoriniais rezultatais ir klinikiniais rodikliais naudojami siekiant tiksliau nustatyti simptomų patiriančių pacientų gydymą.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Skirta tik *in vitro* diagnostikai.
- Atlikdami visas procedūras, taikykite aseptines technikas ir nustatytas atsargumo priemones dėl mikrobiologinių pavojų, ypač atkreipkite dėmesį į tai, kad inokuliuotose plokštelėse gali būti potencialių patogeninių mikroorganizmų.
- Šioje medžiagoje yra infekcinių agentų, todėl ją reikia išmesti kaip biologiškai pavojingas atliekas.
- Šio tyrimo rezultatus visada reikia interpretuoti įvertinus paciento ligos istoriją, kliniką ir kitus duomenis.
- Skirta naudoti tik vieną kartą. Jokių „MicroScan“ plokštelių ir vartojimo reikmenų negalima naudoti pakartotinai, nebent būtų nurodyta kitaip (pavyzdžiui, dengiamieji dėklai).
- Šio gaminio sudėtyje yra gyvūninės kilmės medžiagos (-ų) iš dehidruotos mikrobiologinės terpės. Dirbant su šiuo gaminiu privalu laikytis bendrųjų saugos rekomendacijų.

LAIKYMAS

Išdžiovintas gramneigiamąsias plokšteles reikia laikyti 2–25 °C temperatūroje.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMAI

Ilgai laikant kitokiomis nei rekomenduojamos laikymo sąlygomis gali hidrolizuotis identifikavimo substratai. Nenaudokite pasibaigus galiojimo laikui. Papildomos pagalbos kreipkitės į „Beckman Coulter“ atstovą arba platintoją.

BANDINIŲ PAĖMIMAS IR PARUOŠIMAS

Atitinkamus mėginius reikia paimti, transportuoti ir užsėti į pirminę išskyrimo terpę pagal *Manual of Clinical Microbiology* (Klinikinės mikrobiologijos vadove)² rekomenduojamas procedūras.

PATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

Neigiamoji ID 2 tipo (B1017-27)

Procedūrų ir kokybės kontrolės vadovas

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

5 % alfa naftolis, 30 ml (B1010-42A)

10 % geležies chloridas, 30 ml (B1010-48A) arba 250 ml (B1015-48)

0,5 % N, N-dimetil-alfa-naftilaminas, 30 ml (B1010-45A) arba 250 ml (B1015-45)

40 % kalio hidroksidas, 30 ml (B1010-43A) arba 250 ml (B1015-43)

0,8 % sulfanilo rūgštis, 30 ml (B1010-44A) arba 250 ml (B1015-44)

0,5 McFarlando drumstumo standartas

100 µl automatinė pipetė

Brūkšinių kodų etikečių popierius (B1018-129)

Dengiamieji dėklai (B1010-56B)

Bendroji laboratorinė įranga

Kovačo reagentas, 30 ml (B1010-41A) arba 250 ml (B1015-41)

Rankiniu būdu pildomi plokštelių darbo lapai (naudojami rankiniu būdu nuskaitytiems rezultatams įrašyti)

Mikroskiedimo peržiūros priemonė

Mineralinė alyva, 60 ml (B1010-40)

Mineralinė alyva, 250 ml (B1010-40A)

Oksidazės reagentas

Kokybės kontrolės mikroorganizmai (žr. šios instrukcijos KK skyrių)

Kokybės kontrolės ataskaitų formos

Reagentų lašinamųjų pipetių komplektas (B1013-12A)

RENOK – rehidratavimo įrenginys / inokuliatorius (B1018-14) arba atitikmuo

Drumstumo matuoklis.

Sūkurinė maišyklė

VIENTARTINĖS MEDŽIAGOS

0,85 % autoklave apdorotas fiziologinis tirpalas, 3 ml

Vienkartiniai sterilūs pipetės antgaliai

Inokuliatoriaus D rinkinys (B1013-4)

Inokulianto vanduo, 3 ml (B1015-2)

Inokulianto vanduo su „PLURONIC®“, 25 ml (B1015-7)*

„Prompt®“ inokuliavimo sistema (B1026-10D)**

Sandarinimo juostelės (B1010-51)

*Paviršiaus aktyviosios medžiagos PLURONIC®. Registruotasis prekės ženklas, priklausantis „BASF Corporation“, Parsippany, NJ, JAV.

**3M, St. Paul, MN USA

DARBO EIGA

Plokštelių paruošimas

1. Išimkite naudojamą plokštelę iš saugyklos. Nenaudokite, jei pažeistas pakuotės vientisumas (pakuotė atidaryta, pradurta arba suplėšyta).
2. Perpjaukite maišelį ir išimkite plokštelę. Jei laikoma šaldytuve, plokštelę tuoj pat išimkite iš folijos maišelio.
3. **Plokštelės neturi būti naudojamos, jei tenkinama bet kuri toliau pateiktų sąlygų.**
 - A. Džiovinimo nėra arba jis sulūžęs.
 - B. Išblukę plokštelės šulinėliai (pvz., DCB, įvairios antimikrobinės medžiagos).
4. Prieš rehidratuodami, leiskite plokštelių temperatūrai susilyginti su kambario temperatūra. Plokštelės turi būti sudėtos su švairiu dengiamuoju dėklu ant viršaus. Visos atidarytos plokštelės turi būti sunaudotos tą pačią dieną arba išmestos.

Inokulianto paruošimas

CLSI rekomenduoja periodiškai tikrinti inokulianto tankius atliekant kolonijų skaičiavimus. Kolonijų skaičiavimo rekomendacijas žr. CLSI dokumento M07 11 leid. Tikėtini *E. coli* ATCC 25922 rezultatai turi būti maždaug lygūs 5×10^5 KSV/ml galutinių tyrimo koncentracijų.³ Naudotojas turi kruopščiai paruošti inokuliantą, ypač naudodamas neautomatinius metodus, priklausančius nuo technikos, pavyzdžiui, sistemą „Prompt“ arba inokuliantą, paruoštą nenaudojant fotometrinio prietaiso.

1. Drumstumo nustatymo standartinė metodika – pirminio inokulianto metodas

Drumstumo nustatymo standartinę techniką rekomenduojama naudoti tiesioginiam visų aerobinių gramneigiamųjų bakterijų inokuliacijai.

- A. Naudodami sterilią aplikatoriaus lazdelę, kilpelę arba tamponą, palieskite 4–5 didelių arba 5–10 mažų, morfologiškai panašių gerai išskirtų kolonijų paviršių, kai kolonijos buvo 18–24 valandas augintos neslopinančio agaro lėkštelėje.
 - B. Padarykite emulsiją 3 ml inokulianto vandens (apdorotas autoklave dejonizuotas vanduo).
 - C. Suspensiją sandariai uždarykite dangteliu ir 2–3 sekundes maišykite sukuriniu būdu.
 - D. Galutinis drumstumas turi būti lygus 0,5 McFarlando drumstumo standarto. Lygiavertį drumstumą galima gauti naudojant drumstumo matuoklį „MicroScan“, kurio matavimo diapazonas yra $0,08 \pm 0,02$.
 - E. Pipete sulašinkite 0,1 ml (100 µl) standartizuotos suspensijos į 25 ml inokulianto vandens su PLURONIC. Sandariai uždarykite dangteliu. 8–10 kartų apverskite, kad susimaišytų.
2. „Prompt“ sistema

„Prompt“ sistemą galima naudoti, norint inokuliuoti gramneigiamąsias bakterijas. Informacijos apie tinkamą „Prompt“ sistemos naudojimą žr. „Prompt Inoculation Procedural Manual“ („Prompt“ inokuliacijos procedūrų vadove).

PASTABA. Naudokite atsargiai. Nepakankamas inokuliacijos gali įvykti tada, kai organizmai neatitinka dydžio reikalavimų. Nepakankamai inokuliacijos gali būti gauti klaidingi jautrumo ir identifikavimo tyrimo rezultatai.

Oksidazės tyrimas

Prieš inokuliuodami plokštelę atlikite oksidazės tyrimą. Rezultatus įrašykite atitinkamoje darbo lapo vietoje arba pagal prietaisų reikalavimus. Naudojantis oksidazės rezultatus galima taksonomiškai atskirti ir iš anksto pranešti apie nefermentuojančius organizmus (pavyzdžiui, *Acinetobacter baumannii* kompleksą). Naudojant sistemas „WalkAway“, oksidazės rezultatus rekomenduojama įvesti prieš spausdinant brūkšninius kodus. Kai kurie nefermentuojantys organizmai gali išsilaikyti iki 42 valandų, priklausomai nuo augimo. Rekomenduojamas oksidazės reagentas yra tetrametil-p-fenilen-diamin-dihidrochloridas.

Plokštelių rehidratavimas / inokuliacijos

Rehidratavimas ir inokuliacijos atliekami naudojant RENOK sistemą su „Inoculators-D“ (B1013-4). Žr. „RENOK Operator's Manual“ (RENOK operatoriaus vadovą). Jei naudojama kita sistema, rehidratuokite 115 ± 10 µl inokulianto vandens su PLURONIC. Turėtų būti pasiekta galutinė $3-7 \times 10^5$ KSV/ml šulinėlio koncentracija. Kad užtikrintumėte tiriamo organizmo gyvybingumą ir grynumą, reikia paruošti grynumo patikrinimo lėkštelę, užsėjant inokuliantą atitinkamo agaro lėkštelėje ir inkubuojant atitinkamomis sąlygomis. Jei grynumo patvirtinimo lėkštelėje yra du ar daugiau kolonijų tipų, kolonijas pakartotinai išskirkite ir ištyrkite.

Biocheminiai padengimai

1. Naudodamiesi lašinamuoju buteliuku padenkite GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN ir DCB šulinėlius 3 lašais mineralinės alyvos. Šie šulinėliai plokštelėje pabraukti.
2. Šulinėlių terpė turi būti visiškai padengta mineraline alyva, tačiau alyva neturi išsiliesti iš šulinėlių.

PASTABA. Sistemos „WalkAway“ (ir sistemos „WalkAway“, atnaujintos įdiegiant automatinio padengimo alyva funkciją) į reikiamus šulinėlius automatiškai įpila alyvos.

Sandarinimo juostelė

Tik tirdami oksidazei teigiamus gramneigiamuosius organizmus, uždėkite sandarinimo juostelę ant CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B ir DCB šulinėlių. Ketvirčio colio lokatoriaus skylutę juostoje reikia sulygiuoti virš DCB šulinėlio. „WalkAway“ sistemose vietoje sandarinimo juostelės naudojamas dangtelis.

Inkubavimas

1. Plokšteles galima inkubuoti „WalkAway“ sistemoje arba inkubuoti autonominiu režimu, atlikus šiuos žingsnius:
 - A. Norėdami užtikrinti vienodą terminį pasiskirstymą, kai inkubuojama, sudėkite plokšteles grupėmis 3–5 plokšteles.
 - B. Ant kiekvienos plokštelių grupės uždėkite švarų dengiamąjį dėklą, kad apsaugotumėte nuo garavimo. Dengiamuosius dėklus galima naudoti pakartotinai. Nešvarinkite dengiamųjų dėklų alkoholiu. Juos galima valyti muilu ir vandeniu. Gerai praskalaukite ir leiskite išdžiūti ore.
 - C. Plokšteles bent 16 valandų inkubuokite 35 °C temperatūroje ne CO₂ inkubatoriuje.

Plokštelių nuskaitymas

Plokšteles galima nuskaityti neautomatiškai ir įrašyti rezultatus rankiniu būdu pildomame plokštelės darbo lape arba naudoti „MicroScan“ prietaisus („autoSCAN-4“ ir „WalkAway“ sistemas). Informacijos apie plokštelių nuskaitymą naudojant „MicroScan“ prietaisus žr. Operatoriaus žinyne.

1. Po 16–20 valandų inkubavimo išimkite plokšteles iš inkubatoriaus.
2. Plokštelės apačią nušluostykite nepūkuotu audiniu, kad pašalintumėte kondensaciją arba esamus likučius.
3. Plokšteles nuskaitykite tik tada, jei kontrolinis šulinėlis yra skaidrus, o augimo šulinėlis drumstas. Plokštelės neskaitykite, jei kontrolinis šulinėlis drumstas arba jei augimo šulinėlyje nestebima augimo. Drumstumas gali būti matomas kaip visame šulinėlyje pasklidęs baltas drumstumas, šulinėlio viduryje išryškėjusi balta akutė arba visame šulinėlyje augančios smulkios granulės. Augimas laikomas nepakankamu ar nesančiu, kai šulinėlyje yra nežymus baltumas arba terpė yra skaidri.
4. Jei rezultatai nuskaitymi neautomatiškai, įrašykite rezultatus atitinkamame darbų lape.
5. **Identifikavimo substratų nuskaitymas**
 - A. Visus identifikavimo substratus nuskaitykite naudodami baltą foną, išskyrus CET ir identifikavimui naudojamas antimikrobines medžiagas (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), kurias reikia nuskaityti juodame (netiesiogiai apšviestame) fone.
 - B. Šie substratai visada nuskaitymi po 16–24 val.: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
 - C. Jeigu tenkinama bet kuri iš šių sąlygų:
 - a. GLU arba SUC, arba SOR teigiamasis arba
 - b. ARG teigiamasis ir OF/G teigiamasis arba
 - c. ARG teigiamasis ir CET teigiamasis arba
 - d. LYS teigiamasis arba
 - e. ORN teigiamasis arba
 - f. OXI teigiamas ir OF/G teigiamas bei Fd₆₄ teigiamas ir MAL teigiamas.

Tai padarę pridėkite reagentų ir po 16–24 val. inkubavimo nuskaitykite likusius substratus. Jeigu netenkinama nė viena pirmiau nurodytų sąlygų, prieš pridėdami reagentų ir nuskaitydami likusius substratus dar 24 val. pakartotinai inkubuokite plokšteles.

- D. Jei po pakartotinio inkubavimo mikroorganizmas vis tiek atrodo nereaktyvus, patikrinkite, ar mikroorganizmas augo fenolio raudonojo angliavandenių terpėje (ypač, jei Mueller-Hinton kontroliniame augimo šulinėlyje stebimas mažas augimas arba jo nėra). Jeigu nėra augimo fenolio raudonojo angliavandenių terpėje, reikėtų įtarti esant lėpiųjų mikroorganizmų, pavyzdžiui, halofilinių *Vibrio* rūšių. Norint patvirtinti, kad jis yra gramneigiamasis, reikia pakartoti dažymą Gramo būdu.
 - a. Jei įtariama kliniškai reikšminga liga, kurią sukėlė halofilinė *Vibrio* rūšis, pakartokite tyrimą, padarydami kelių kolonijų emulsiją 3,0 ml sterilus 0,85 % fiziologinio tirpalo, ir atlikite papildomus tyrimus, įskaitant augimą druskoje, kaip rekomenduoja programinė įranga. Galutinis drumstumas turi būti lygus 0,5 McFarlando drumstumo standartui. Lygiavertį drumstumą galima gauti naudojant „MicroScan“ drumstumo matuoklį, kurio matavimo sritis yra 0,08 ± 0,02. Rehidratuokite plokštelę 25 ml neinokuliuoto inokulianto vandens su „PLURONIC“, naudodami „RENOK“. Sterilia perkėlimo pipete įlašinkite po vieną lašą (45–50 µl) fiziologinio

tirpalo suspensijos į kiekvieną indentifikavimo šulinėlį, įskaitant augimo, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ ir Fd₆₄ šulinėlius. Reikia atlikti visus kitus plokštelės apdorojimo etapus.

E. Prieš nuskaitymą pridėkite reagentų šia tvarka:

- Į VP šulinėlį įlašinkite 1 lašą 40 % kalio hidroksido (KOH) ir 1 lašą 5 % alfa naftolio. Palaukite mažiausiai 20 minučių, kad įvyktų VP reakcija.
- Į TDA šulinėlį įlašinkite 1 lašą 10 % geležies chlorido. Spalva atsiranda iš karto.
- Į IND šulinėlį įlašinkite 3 lašus „MicroScan“ Kovačo reagento. Spalva atsiranda iš karto.

PASTABA. „MicroScan“ Kovačo reagentas yra speciali formulė, sukurta naudoti su „MicroScan“ prietaisais. Jei plokštelės nuskaitymos neautomatiškai, reikia naudoti tik vieną lašą.

- Į NIT šulinėlį įlašinkite 1 lašą 0,8 % sulfanilo rūgšties ir 1 lašą 0,5 % N, N-dimetil-alfa-naftilamino. Prieš nuskaitydami palaukite bent 5 minutes, kol įvyks NIT reakcija.

F. Jei reikia pagalbos atliekant biocheminį interpretavimą, žr. skyrių REZULTATAI.

REZULTATAI

1. Biocheminis interpretavimas

Šulinėlis	Reagentas	Teigiamas	Neigiamas
GLU		Tik ryškiai geltona	Nuo oranžinės iki raudonos
SUC		Kai kurios nefermentuojančios bakterijos gali išskirti aukso spalvą, ir tai turi būti laikoma neigiama reakcija. Nuo geltonos iki geltonos / oranžinės	Nuo oranžinės iki raudonos
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Nuo rausvai alyvinės iki rožinės	Geltona, oranžinė arba šviesiai rožinė
H ₂ S		Juodos nuosėdos arba juoda akutė	Nėra patamsėjimo
IND	Įlašinkite 3 lašus (arba vieną lašą, jei plokštelė nuskaityta vizualiai) „MicroScan“ Kovačo reagento. Spalva atsiranda iš karto.	Nuo rožinės iki raudonos <i>Providencia</i> sp. gali sudaryti blankiai rožinį žiedą, kurį reikia laikyti teigiama reakcija.	Nuo blankiai geltonos iki oranžinės
Palyginkite LYS, ARG ir ORN su DCB. Kad toliau pateikti rezultatai būtų galiojantys, šie šulinėliai turi būti padengti alyva. Lyginant su pilku DCB šulinėliu violetinė spalva laikoma teigiama reakcija. Lyginant su geltonu DCB šulinėliu pilka spalva laikoma teigiama reakcija. Tiriant nefermentuojančius mikroorganizmus, teigiamas tyrimas turi būti žymiai labiau purpurinis nei bazinis kontrolinis tyrimas. Jei bazinis kontrolinis tyrimas yra purpurinis, bazinė terpė buvo šarminta ir LYS, ARG bei ORN reikia įrašyti kaip neigiamus. Tai būdinga <i>Achromobacter</i> rūšims ir <i>Ochrobactrum anthropi</i> .			
LYS		Nuo purpurinės iki pilkos	Fermentuojantys mikroorganizmai: Geltona
ARG			Nefermentuojantys mikroorganizmai:
ORN		Purpurinė	Nuo bespalvės iki pilkos
TDA	Įlašinkite 1 lašą 10 % geležies chlorido. Spalva atsiranda iš karto.	Bet kuris rudos spalvos atspalvis	Nuo geltonos iki oranžinės
ESC		Nuo šviesiai rudos iki juodos	Nuo smėlio spalvos iki bespalvės

Šulinėlis	Reagentas	Teigiamas	Neigiamas
VP	Ilašinkite 1 lašą 40 % KOH ir 1 lašą 5 % alfa naftolio. Palaukite mažiausiai 20 minučių, kad įvyktų reakcija.	Raudona Kai kurios nefermentuojančios bakterijos po 18 inkubavimo valandų gali išskirti blyškiai rožinę spalvą, kuri turi būti laikoma neigiama reakcija.	Bespalvis
ONPG		Geltona Palyginkite bet kurį ONPG šulinėlį, kuris atrodo skaidrus, su cetrimido šulinėliu. Jei palyginus su cetrimido šulinėliu ONPG šulinėlis rodo bet kokį geltonumą, įrašykite kaip teigiamą.	Bespalvis
CIT		Nuo mėlynos iki mėlynai žalios	Nuo žalios iki geltonos
MAL		Bet koks mėlynos spalvos atspalvis laikomas teigiama reakcija	
TAR			
ACE			
CET		Augimas	Augimo nėra
OF/G		Geltona Nuo geltonos iki žalios OF/G šulinėlį palyginkite su OF bazės kontroline medžiaga.	Jei OF bazė žalia: Nuo žalios iki mėlynos Jei OF bazė mėlyna arba mėlynai žalia: Mėlyna
NIT	Ilašinkite 1 lašą 0,8 % sulfanilo rūgšties ir 1 lašą 0,5 % N, N-dimetil-alfa-naftilamino. Palaukite mažiausiai 5 minučių, kad įvyktų reakcija.	Raudona	Nuo bespalvės iki blankiai rožinės
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Augimas (atsparus)	Augimo nėra (jautrus)
LOC	Tik atliekant plokštelių atpažinimą „autoSCAN-4“ ir „WalkAway“ sistema.		

2. Identifikavimo reakcijų principas

Angliavandenių fermentavimas (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): specifinio angliavandenių fermentavimo rezultatas – rūgšties susiformavimas, o fenolio raudonojo indikatoriumi aptinkamas pH sumažėjimas.

Šlapalas (URE): fermentas ureazė skaido šlapalą sudarydamas amoniaką. Atsiradęs pH padidėjimas aptinkamas fenolio raudonojo indikatoriumi.

Vandenilio sulfidas (H₂S): vandenilio sulfido dujos gaunamos iš natrio tiosulfato ir reaguoja su geležies jonais terpėje, kad iškristų juodos nuosėdos.

Indolas (IND) – triptofano metabolizmo rezultatas – indolo susiformavimas, kuris aptinkamas pridėjus Kovačo reagento. Jei yra indolo, atsiranda raudona spalva.

Lizinas, argininas, ornitinas (LYS, ARG, ORN): šių amino rūgščių dekarboksilinimo rezultatas – bazinių aminių susidarymas, kurie aptinkami bromkrezolio purpurinio indikatoriumi.

Triptofano deaminazė (TDA): bakterija, galinti deamininti triptofaną, išskiria indolpiruvato rūgštį, kuri pridėjus geležies chlorido, kad atsirastų ruda spalva, terpėje reaguoja su geležies amonio citratu.

Eskulino hidrolizė (ESC): eskulino hidrolizė aptinkama geležies amonio citratu terpėje, kuri reaguoja su hidrolizės reakcijos produktais, kad iškristų juodos nuosėdos.

Voges'o-Proskauer'io (VP): acetoinas gaunamas iš natrio piruvato ir yra indikuojamas pagal raudonos spalvos atsiradimą pridėjus 40 % kalio hidroksido ir 5 % alfa naftolio.

Galaktozidazė (ONPG): β-galaktozidazė hidrolizuoja orto-nitrofenil-β-D-galaktopiranozidą, kuris atpalaiduoja geltonos spalvos orto-nitrofenolį.

Citratas, malonatas, acetamidas, tartratas (CIT, MAL, ACE, TAR): naudojant šiuos substratus, kaip vienintelį metabolizmo anglies šaltinį, padidėja pH, o tai aptinkama bromtimolio mėlynojo indikatoriumi.

Oksidacinė fermentacija (OF/G): gliukozės oksidacijos rezultatas – rūgšties susidarymas, o bromtimolio mėlynojo indikatoriumi aptinkamas pH sumažėjimas. OF/G palyginami su OF/B (baziniais), norint nustatyti, ar susidarė rūgštis.

Nitratas (NIT): organizmo gebėjimas redukuoti nitrata į nitritą aptinkamas pridėjus N, N-dimetil-alfa-naftilamino ir sulfanilo rūgšties, kurie esant nitrito išskiria raudoną spalvą.

Cetrimidas (CET): toleranciją cetrimidui rodo augimas Mueller-Hinton terpėje, papildytoje cetrimidu.

Penicilinas, kanamicinas, kolistinas, cefalotinas, nitrofurantoinas, tobramicinas (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): atsparumą tam tikroms šių antimikrobinių medžiagų koncentracijoms rodo augimas.

3. Mikroorganizmo identifikavimas

„Biotype Lookup Program“ „LabPro“ informacijos tvarkyklėje ir „Beckman Coulter“ interneto svetainėje naudojama identifiкуoti nežinomus tiriamus organizmus. Programa organizmų identifikaciją ir santykinę tikimybę pateikia nuo didžiausios tikimybės iki sukaupinės bendros 99,9 % tikimybės.

Jei biotipo rezultatas yra „Labai retas biotipas“, informacijos ieškokite „LabPro“ programinėje įrangoje [Utilities (Paslaugų programos) > System (Sistema) > Biotype Lookup (Biotipų paieška)], „Beckman Coulter“ interneto svetainėje esančioje „Biotype Lookup Program“ skyriuje arba kreipkitės į „Beckman Coulter“ atstovą ar platintoją.

METODO APRIBOJIMAS

1. *Haemophilus* ir kitos lepiosios gramneigiamosios bakterijos neaugs Mueller-Hinton terpėje, nepapildytoje augimą skatinančiais faktoriais.
2. Čia aprašytos procedūros tinka tik fakultatyvinėms anaerobinėms ir aerobinėms gramneigiamosioms baciloms.
3. Gali būti reikalingi papildomi tyrimai, siekiant nustatyti galutinę identifikaciją, kai gaunama mažos tikimybės (< 85 %) identifikacija; žr. „MicroScan“ „Biotype Lookup Program“ arba „Microbiology Manual“ (Mikrobiologinės analizės vadovą).
4. Tyrimo rezultatų interpretavimą turi atlikti išmokytas klinikos personalas, kuris prieš patvirtindamas organizmo identifikaciją, turi atsižvelgti į savo nuomonę, žinias ir papildomus patvirtinamuosius tyrimus.
5. Biotipų numerių negalima naudoti iš atskirų to paties paciento mėginių išskirtų padermių fenotipui identifiкуoti.
6. Visuomenės sveikatos priežiūros darbuotojus reikia informuoti apie visas išskirtas padermes, spėjamai identifiкуotas kaip *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* arba *F. tularensis*. Norint patvirtinti išskirtas šių bakterijų padermes, gali reikėti atlikti specialius tyrimus, siūlomus tik etaloninėse arba visuomenės sveikatos laboratorijose.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Identifikavimo terpių priimtinumą reikia patikrinti ištiriant organizmus, kurių reakcijos yra žinomos. Rekomenduojamų Amerikos kultūrų tipų kolekcijos (ATCC) kontrolinių organizmų rezultatai pateikti šiose lentelėse.*

*Amerikos kultūrų tipų kolekcija, Manassas, VA USA

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Mėlyna, mėlynai žalia, žalia	Mėlyna, mėlynai žalia	Mėlyna, mėlynai žalia, žalia	Mėlyna, mėlynai žalia, žalia
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Nuo pilkos iki geltonos	Nuo pilkos iki geltonai pilkos	Geltona	Netaikoma
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Netaikoma
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₂ ²	V	+	V	Netaikoma
To ₄ ²	-	-	-	Netaikoma

1. Amerikos kultūrų tipų kolekcija, Manasas, VA USA

2. Kiekvieno biocheminio tyrimo teigiamas arba neigiamas reakcijas žr. lentelėje „Papildomi tyrimai“.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853, po 18 inkubavimo valandų, VP gali išskirti blankiai rožinę spalvą, kurią reikia interpretuoti kaip neigiamą reakciją.

4. Silpną teigiamą reakciją galima pasiekti su *E. coli* ATCC 25922, jei plokštelės inkubuojamos ilgiau nei 18 valandų.

5. Gali prireikti inkubuoti 48 valandas.

N/A = Netaikoma

PASTABA: kokybės kontrolės mikroorganizmai pasirenkami siekiant gauti visų identifikavimo substratų teigiamas / neigiamas reakcijas. Dėl to mikroorganizmų identifikacijos gali skirtis nuo pateiktų KK lentelėje. Gaminio priimtinumą reikia nustatyti lyginant tyrimų rezultatus, o ne identifikavimą.

Papildomų tyrimų lentelė

Mikroorganizmas	Substratas	Numatomas rezultatas
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotus</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Išdžiovintų gramneigiamųjų organizmų identifikavimas – supaprastinta ID KK ¹					
KK kontrolės mikroorganizmas	ATCC numeris	Pagrindinis indikacinis substratas	Numatomas rezultatas	Rezultatas už specifikacijos ribų	Labilus substratas
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Taip
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Taip

1. Pagrindiniai kokybės kontrolės indikatoriai pateikti supaprastintai KK pagal CLSI dokumentą M50-A.⁴ Prieš įdiegdami supaprastintą KK programą, išsamesnės informacijos žr. M50-A dokumente ir, norėdami patvirtinti priimtumą, pasitikslinkite atitinkamoje reguliuojančioje institucijoje ir inspekcijos grupėse.

VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

„MicroScan“ išdžiovintų gramneigiamųjų identifikavimo plokštelių tyrimo ypatybės buvo nustatytos daugiacentriu tyrimu. Klinikinės išskirtos padermės ir fonde saugomos padermės buvo tiriamos išdžiovintoje neigiamo ID 2 tipo plokštelėje ir įprastiniais tyrimo mėgintuvėliuose metodais, siekiant parodyti tikėtinos bakterijų populiacijos tipą įprastinėje klinikinėje laboratorijoje. Išsamus į duomenų bazę įtrauktų mikroorganizmų sąrašas pateiktas „Microbiology Information Manual“ (Mikrobiologinės informacijos vadovo) skyriuje „Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli“ (Išdžiovintos (įprastinės) neigiamosios plokštelės: gramneigiamosios aerobinės bakterijos).

Procentinė sutaptis su etaloniniu metodu

Patikrintų skaičius	Teisingo identifikavimo Nr.	Teisingo identifikavimo %
609	593	97,4

ATKURIAMUMAS

Atkuriamumas nustatomas, įvairiomis sąlygomis (pavyzdžiui, naudojant skirtingų partijų plokšteles, tiriant skirtingomis dienomis ar prietaisais, tyrimus atliekant skirtingiems naudotojams) tiriant keletą replikatų. Tai gali būti KK padermės, klinikiniai izoliatai ar abu šie variantai. Bendras atitikimas buvo $\geq 95\%$.

PRANEŠIMAS DĖL GARANTIJOS

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

PASTABA NAUDOTOJUI

Apie kiekvieną su „MicroScan“ plokštelėmis susijusį rimtą incidentą turi būti pranešama „Beckman Coulter“ ir valstybės narės, kurioje naudotojas ir (arba) pacientas yra įsisteigęs / įsikūręs, kompetentingai institucijai.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA	DATA	APRAŠAS
AA	2022 m. gegužė	Pradinis leidimas
AB	2022 m. gruodis	Atnaujinta: Atkuriamumas

Simbolių sutartiniai ženklai

„Beckman Coulter“ mikrobiologijos padalinio gaminių etiketėse gali būti naudojami toliau nurodyti simboliai.

Simbolių sutartiniai ženklai			
Simbolis	Simbolio pavadinimas	Standarto aprašas	Etaloninė medžiaga
	Nenaudoti pakartotinai	Nurodoma, kad medicinos prietaisas skirtas naudoti tik vieną kartą arba naudoti tik vienam pacientui vienos procedūros metu.	ISO 15223-1, 5.4.2 skyrius
	Sunaudoti iki nurodytos datos	Nurodoma data, po kurios medicinos prietaiso nebegalima naudoti.	ISO 15223-1, 5.1.4 skyrius
	Partijos kodas	Nurodomas gamintojo serijos kodas, kad būtų galima identifikuoti seriją arba partiją.	ISO 15223-1, 5.1.5 skyrius
	Katalogo numeris	Nurodomas gamintojo katalogo numeris, kad būtų galima identifikuoti medicinos prietaisą.	ISO 15223-1, 5.1.6 skyrius
	Gamintojas	Nurodomas medicinos prietaiso gamintojas, kaip apibrėžiama ES direktyvose 90/385/EEB, 93/42/EEB ir 98/79/EB.	ISO 15223-1, 5.1.1 skyrius
	Pagaminimo data	Nurodoma medicinos prietaiso pagaminimo data.	ISO 15223-1, 5.1.3 skyrius
	Įgaliotas atstovas Europos Bendrijoje	Nurodomas įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje.	ISO 15223-1, 5.1.2 skyrius

Simbolių sutartiniai ženklai			
Simbolis	Simbolio pavadinimas	Standarto aprašas	Etaloninė medžiaga
	Turinio pakanka <n> tyrimų	Nurodoma, kiek iš viso IVD tyrimų galima atlikti naudojant IVD. (Dažniausiai nurodoma ant reagentų rinkinių.)	ISO 15223-1, 5.5.5 skyrius
	In vitro diagnostikos medicinos prietaisas	Šiuo simboliu žymimas medicinos prietaisas, skirtas naudoti tik kaip in vitro diagnostikos medicinos prietaisas.	ISO 15223-1, 5.5.1 skyrius
	Temperatūros ribojimai	Nurodomos medicinos prietaisui saugios temperatūros ribos.	ISO 15223-1, 5.3.7 skyrius
	Skaitykite naudojimo instrukciją	Nurodoma, kad naudotojas turi skaityti naudojimo instrukcijoje pateikiamą informaciją.	ISO 15223-1, 5.4.3 skyrius
	CE ženklas	Europos direktyvų atitikties reguliacinis ženklas	netaikoma
	Turinys	netaikoma	netaikoma
	Turinys (pakuotė)	Antimikrobinė medžiaga (santrumpa)	netaikoma
	Turinys (pakuotė)	Identifikavimo substratas (santrumpa)	netaikoma
	Saugos duomenų lapas	Nurodomas saugos duomenų lapas.	netaikoma
	Made in USA	netaikoma	netaikoma
	Tik eksportui	netaikoma	netaikoma
	Paruošimo tūris	netaikoma	netaikoma
	Trapus, elgtis atsargiai	Nurodoma, kad nerūpestingai elgiantis medicinos prietaisas gali sulūžti arba sugesti.	ISO 15223-1, 5.3.1 skyrius
	Šia kryptimi į viršų	Nurodoma tinkama stačia padėtis	ISO 7000: 0623
	Tik JAV skirta informacija	Pateikiama informacija, privaloma tik JAV parduoti skirtiems gaminiams.	netaikoma
	Tik pagal receptą	JAV FDA pripažįstamas kaip alternatyva įspėjimui „Dėmesio: pagal federalinę įstatymą šį prietaisą gali parduoti tik licencijuotas specialistas arba tai gali būti padaryta jo nurodymu“	21CFR 801.109(b)(1)
	Biologiniai pavojai	Nurodoma, kad gali būti su medicinos priemone susijusių biologinių pavojų. Pastaba. Šio simbolio negalima painioti su ženklu „biologinis pavojus“, skirtu naudoti darbo vietoje.	ISO 15223-1, 5.4.1 skyrius
	Pavojinga	netaikoma	netaikoma
„ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements“ (ISO 15223-1: Medicinos priemonės. Medicinos priemonių etiketėse, ženklavimo ir teiktinoje informacijoje vartotini simboliai. 1 dalis. Bendrieji reikalavimai).			

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

MicroScan

2-es típusú, Gram-negatív azonosító panelre vonatkozó eljárások kézikönyve, LabPro 5.0 vagy annál újabb verzió

REF B1017-27

RENDELTESSZERŰ HASZNÁLAT

A 2-es típusú MicroScan neg. azonosító panel izolált telepekből származó, gyorsan növekedő aerob és fakultatív anaerob Gram-negatív bacilusok fajszintű kvalitatív identifikálására szolgáló *in vitro* diagnosztikai orvostechnikai eszköz. Az inkubációs és eredménymeghatározási módszerek közé tartozik a WalkAway berendezéseken végzett teljes automatizálás, illetve a nem automatizált offline inkubáció autoSCAN-4 berendezéssel vagy manuálisan végzett leolvasással; utóbbi esetén az eredmények opcionálisan bevezethetők a LabPro adatkezelő rendszerbe.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS ELVEK

Miután a paneleket inokulálta és rehidratálta standardizált mikroorganizmus-szuszpenzióval, inkubálja őket legalább 16 órán át 35 °C-on. A fermentáló és nem fermentáló Gram-negatív bacilusok azonosításához módosított hagyományos és kromogén tesztek használhatók. Az azonosítás a pH-változások, a szubsztrátfelhasználás és az antimikrobiális szerek jelenlétében, 35 °C-on történő 16–42 órányi inkubációt követő növekedés kimutatásán alapul.¹

Neg. azonosító panel, 2-es típus			
Szubsztrátok	Röv.	Szubsztrátok	Röv.
Glükóz	GLU	Voges–Proskauer	VP
Szacharóz	SUC	Citrát	CIT
Szorbit	SOR	Malonát	MAL
Raffinóz	RAF	o-nitrofenil-β-D-galaktopiranozid	ONPG
Ramnóz	RHA	Tartrát	TAR
Arabinóz	ARA	Acetamid	ACE
Inozitol	INO	Cetrimid	CET
Adonitol	ADO	OF glükóz	OF/G
Melibióz	MEL	OF alap	OF/B
Urea	URE	Dekarboxiláz bázis	DCB
Hidrogén-szulfid	H ₂ S	Nitrát	NIT
Indol	IND	Penicillin G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lizin	LYS	Kanamycin 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginin	ARG	Kolisztin 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornitin	ORN	Nitrofurantoin 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Triptofán-deamináz	TDA	Cefalotin 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Eszkulin	ESC	Tobramycin 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Az azonosításhoz használt antimikrobiotikumok.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

Az azonosítási teszt eredményeit más laboratóriumi vizsgálatok eredményeivel és klinikai indikátorokkal együtt kell használni a tüneteket mutató betegek kezelésére szolgáló terápia finomítása során.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Kizárólag *in vitro* diagnosztikai alkalmazásra.
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. Csak egyszeri használatra. A MicroScan paneleket és fogyóeszközöket nem szabad újrafelhasználni, hacsak nincs külön feltüntetve (például a fedőtálcák esetén).
6. A termék dehidratált mikrobiológiai táptalajból származó állati eredetű anyago(ka)t tartalmaz. A termékkel való munka közben tartsa be a védelemre vonatkozó általános biztonsági irányelveket.

TÁROLÁS

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

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva



A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon:
beckmancoulter.com/techdocs

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

Ha hosszú időre az ajánlott tárolási körülményektől eltérő környezeti feltételeknek teszik ki az azonosító szubsztrátokat, az a hidrolízisükhöz vezethet. Ne használja a lejáratí 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)² című kiadványban ajánlott eljárások szerint kell összegyűjteni, szállítani, és elsődleges izoláló táptalajra helyezni.

SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

2-es típusú neg. azonosító (B1017-27)

Használati útmutató az eljáráshoz és minőség-ellenőrzéshez

SZÜKSÉGES, DE NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

5% α-naftol, 30 mL (B1010-42A)

10% vas(III)-klorid, 30 mL (B1010-48A) vagy 250 mL (B1015-48)

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

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

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

0,5 McFarland turbiditási standard

100 µL pipettázó

Vonalkódcímke-papír (B1018-129)

Fedőtálcák (B1010-56B)

Általános laboratóriumi felszerelés

Kovács reagens, 30 mL (B1010-41A) vagy 250 mL (B1015-41)

Manuális panel munkalapok (manuálisan leolvasott eredmények rögzítésére)

Mikrohígítás-megtekintő

Ásványolaj, 60 mL (B1010-40)

Ásványolaj, 250 mL (B1010-40A)

Oxidáz reagens

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

Minőség-ellenőrzési jelentés formanyomtatványok

Reagenscsepegtető készlet (B1013-12A)

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

Turbiditásmérő készülék

Vortex keverő

EGYSZER HASZNÁLATOS ANYAGOK

0,85% autoklávozott sóoldat, 3 mL

Egyszer használatos steril pipettahegyek

Leoltáshoz használt Inoculator-D készlet (B1013-4)

Inokulumfolyadék, 3 mL (B1015-2)

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

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

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

Zárófóliacsíkok (B1010-51)

WalkAway fedőtálcák (B1018-18)

ELJÁRÁS

Panel előkészítése

1. Vegye ki a tárolóból a használandó paneleket. Ne használjon olyan panelt, amelynek sérült (felbontott, lyukas vagy szakadt) a csomagolása.
2. Vágja fel a tasakot, és vegye ki belőle a panelt. Ha a panel hűtőben volt tárolva, azonnal vegye ki a fóliatasakból.
3. **Ne használja az olyan paneleket, amelyeknél fennáll az alábbiak valamelyike:**
 - A. Nincs a csomagban szárítószer, vagy kiszakadt a szárítószer csomagolása.
 - B. A panel cellái elszíneződtek (például DCB, különféle antimikrobás szerek).
4. 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.

Inokulum elkészítése

A CLSI ajánlásai szerint az inokulum sűrűségét telepszámlálással rendszeresen ellenőrizni kell. A telepszámra vonatkozó ajánlásokat lásd az M07 jelű CLSI dokumentum 11. kiadásában. A végleges tesztkoncentrációkhoz az *E. coli* ATCC 25922 várt eredményének közelítenie kell az 5×10^5 CFU/mL értéket.³ A felhasználónak gondosan kell eljárnia az inokulum elkészítéskor, különösen a technikától függő manuális módszerek alkalmazásakor, mint amilyen például a Prompt rendszer vagy a fotometriás eszköz nélküli inokulumkészítés.

1. Turbiditási standardot alkalmazó technika – Elsődleges inokulációs módszer

Valamennyi aerob Gram-negatív bacillus közvetlen leoltásához a turbiditási standardot alkalmazó technikát javasoljuk.

- A. 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.
- B. Emulgeálja 3 mL inokulumfolyadékban (autoklávozott, ioncserélt víz).
- C. Jól zárja le, majd 2–3 másodpercig vortex keverővel keverje a szuszpenziót.
- D. 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.
- E. Pipettázzon 0,1 mL (100 µL) standardizált szuszpenziót 25 mL PLURONIC-tartalmú inokulumfolyadékba. Jól zárja le. Az oldatot 8–10-szer átfördítve jól keverje össze.

2. Prompt rendszer

A Prompt rendszer Gram-negatív bacilusok leoltásához használható. A Prompt rendszer megfelelő használatát a Prompt Inoculation Procedural Manual (A Prompt inokulációs eljárás kézikönyve) ismerteti.

MEGJEGYZÉS: Alkalmazza körültekintően. Előfordulhat alulinokuláltság olyan mikroorganizmusok esetében, amelyek nem felelnek meg a méretre vonatkozó feltételeknek. Az alulinokuláltság helytelen érzékenységi és azonosítási teszteredményekhez vezethet.

Oxidáz teszt

A panelek beoltása előtt végezzen oxidáz tesztet. Jegyezze fel az eredményeket a munkalap megfelelő részére, illetve a berendezés használati utasításában előírtak szerint. Az oxidáz teszt eredménye segíti a taxonok elkülönítését és a nem erjesztő fajok (például *Acinetobacter baumannii* komplex) korai jelentését. A WalkAway rendszerek esetében az oxidáz teszt eredményeit javasolt a vonalkódok nyomtatása előtt bevenni. Egyes nem erjesztő fajok növekedésüktől függően akár 42 órán át is tarthatók. A javasolt oxidáz reagens: tetrametil-p-fenilén-diamin-dihidroklorid.

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 $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ PLURONIC inokulumfolyadékkal végezze a rehidratálást. $3\text{--}7 \times 10^5$ CFU/mL végső cellakonzentrációt kell elérni. A vizsgált mikroorganizmus életképességének és tisztaságának biztosítása érdekében tisztasági lemezt kell készíteni, amelyhez az inokulumot megfelelő agarlemezre szélesztve, megfelelő körülmények között kell inkubálni. Ha a tisztasági lemezen kettő vagy annál több teleptípus jelenik meg, izolálja újra a telepeket, és ismét végezze el a vizsgálatot.

**3M, St. Paul, MN USA

Biokémiai felülrétegzés

1. Csepegtető üveg segítségével, 3 csepp ásványolajat használva fedje be a GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN és DCB cellákat. Ezek a cellák aláhúzással vannak ellátva a panelen.
2. Az ásványolajnak teljesen be kell fednie a cellákban lévő táptalajt, de nem folyhat ki a cellákból.

MEGJEGYZÉS: A WalkAway rendszerek (valamint az automatikus olaj-felülrétegzés funkcióval frissített WalkAway rendszerek) automatikusan olajat adagolnak a megfelelő cellákba.

Zárófóliacsík

Csak oxidáz-pozitív Gram-negatív mikroorganizmusok esetében helyezzen egy zárófóliacsíkot a CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B és DCB cellákra. A csíkon lévő körülbelül negyed hüvelykes pozicionáló nyílásnak a DCB-cella fölé kell kerülnie. WalkAway rendszereknél zárófóliacsík helyett a fedél használatos.

Inkubálás

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 legalább 16 órán át inkubálja 35 °C-on, nem CO₂ inkubátorban.

Panelek leolvasása

A panelek manuálisan leolvashatók, és az eredmények rögzíthetők egy manuális panelmunkalapon vagy MicroScan berendezések (autoSCAN-4 és WalkAway rendszerek) segítségével. A panelek MicroScan berendezéssel való leolvasásának leírását a Felhasználói útmutató 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 törlőkendővel.
3. Csak akkor olvassa le a paneleket, ha a kontrollcella tiszta, és a növekedésvizsgálati cella tartalma zavarossá vált. Ha a kontrollcella zavaros, vagy ha a növekedésvizsgálati cellában nincs növekedés, ne olvassa le a panelt. 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 vagy elmaradó 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. Az identifikáláshoz használt valamennyi szubsztrát leolvasásához használjon fehér hátteret, kivéve a CET és az identifikáláshoz használt antimikrobiális szerek (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) esetén, amelyeket fekete (indirekt megvilágítású) háttér előtt kell leolvasni.
 - B. A következő szubsztrátokat mindig 16–24 óra elteltével kell leolvasni: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
 - C. Ha a következők egyike igaz:
 - a. GLU vagy SUC vagy SOR-pozitív, vagy
 - b. ARG-pozitív és OF/G-pozitív, vagy
 - c. ARG-pozitív és CET-pozitív, vagy
 - d. LYS-pozitív, vagy
 - e. ORN-pozitív, vagy
 - f. OXI-negatív és OF/G-pozitív és Fd₆₄-pozitív és MAL-pozitív.

Ezután adja hozzá a reagenseket, és 16–24 órás inkubálás után olvassa le a maradék szubsztrátokat. Ha a fenti feltételek egyike sem teljesül, a reagensek hozzáadása és a maradék szubsztrátok leolvasása előtt inkubálja újra a paneleket további 24 órán át.

- D. Ha az ismételt inkubálást követően a mikroorganizmus még mindig nem reaktív, ellenőrizze, hogy a mikroorganizmus növekedett-e a fenolvörös indikátort és szénhidrátokat tartalmazó tápoldatban (különösen, ha a Mueller Hinton növekedési kontrollban a növekedés gyenge volt vagy elmaradt). Ha nincs növekedés a fenolvörös indikátort és szénhidrátokat tartalmazó tápoldatban, igényes mikroorganizmus, például halofil *Vibrio* fajok jelenléte gyanítható. A Gram-negatív jelleg megerősítéséhez meg kell ismételni a Gram-festést.

- a. Ha a halofil *Vibrio* fajok miatt klinikailag jelentős betegség gyanúja merül fel, végezze el újra a vizsgálatot a következőképpen: emulgeáljon néhány telepet 3,0 mL steril, 0,85%-os sóoldatban, továbbá végezzen sóban történő növekedést magába foglaló vizsgálatot, a szoftver által ajánlottak szerint. A végső turbiditásnak 0,5 McFarland turbiditási standardéval azonosnak kell lennie. Azonos turbiditás érhető el $0,08 \pm 0,02$ mérési tartományú MicroScan turbiditásmérő segítségével. Rehidratálja a panelt 25 mL nem beoltott, PLURONIC tartalmú inokulumfolyadékkal, RENOK rendszer használva. Steril transzferpipetta segítségével adjon egy csepp (45–50 μ L) sóoldat-szuspenziót mindegyik identifikáló cellához, beleértve a növekedési, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ és Fd₆₄ cellát. Az összes többi panelfeldolgozási lépést el kell végezni.

E. A leolvasás előtt adja hozzá a reagenseket, a következők szerint:

- a. Adjon a VP cellához 1 csepp 40%-os kálium-hidroxid (KOH) és 1 csepp 5%-os α -naftol oldatot. Várjon legalább 20 percet a VP reakció lejártszódásához.
- b. Adjon a TDA cellához 1 csepp 10%-os vas(III)-kloridot. A színfejlődés azonnal megtörténik.
- c. Adjon 3 csepp MicroScan Kovács reagenst az IND cellához. A színfejlődés azonnal megtörténik.

MEGJEGYZÉS: A MicroScan Kovács-féle reagens a MicroScan berendezéssel való használatra készült speciális formula. A panelek manuális leolvasása esetében elegendő egy csepp.

- d. Adjon a NIT cellához 1 csepp 0,8%-os szulfanilsavat, majd 1 csepp 0,5%-os N, N-dimetil- α -naftilamint. A leolvasás előtt várjon legalább 5 percet a NIT reakció lejártszódásához.

F. A biokémiai értelmezéshez segítségként lásd az EREDMÉNYEK című részt.

EREDMÉNYEK

1. Biokémiai értelmezések

Cella	Reagent	Pozitív	Negatív
GLU		Csak élénk sárga	Narancssárga-vörös
		Egyes nem erjesztő fajok arany színt eredményezhetnek, amely negatívnak tekintendő.	
SUC		Sárga-sárga / narancssárga	Narancssárga-vörös
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Bíborvörös-rózsaszín	Sárga, narancssárga vagy halvány rózsaszín
H ₂ S		Fekete csapadék vagy fekete üledék	Nincs feketedés
IND	Adjon hozzá 3 csepp (a panel vizuális leolvasása esetében egy csepp) MicroScan Kovács reagenst. Azonnali színfejlődés történik.	Rózsaszín-vörös	Halvány sárga - narancssárga
		A <i>Providencia</i> sp. halvány rózsaszín gyűrűt eredményezhet, amely pozitívnak tekintendő.	
Hasonlítsa össze a LYS, ARG és ORN cellát a DCB cellával. Ahhoz, hogy érvényes legyen az eredmény, ezeknél a celláknál olaj-felülrétegzést kell alkalmazni. A szürke DCB cellákkal való összevetéskor a lila pozitívnak tekintendő. A sárga DCB cellákkal való összevetéskor a szürke pozitívnak tekintendő. Nem erjesztő fajok esetében egy pozitív tesztnak jóval lilább színt kell eredményeznie, mint az alap kontroll. Ha az alap kontroll lila, az alap táptalaj lúgossá vált, és a LYS, ARG és ORN cellákra negatív eredményt kell feljegyezni. Ezt az <i>Achromobacter</i> fajok és az <i>Ochrobactrum anthropi</i> okozhatják.			
LYS		Lila-szürke	Erjesztő fajok: Sárga
ARG			Nem erjesztő fajok:
ORN		Lila	Színtelen-szürke
TDA	Adjon hozzá 1 csepp 10%-os vas(III)-kloridot. Azonnali színfejlődés történik.	A barna bármilyen árnyalata	Sárga-narancssárga
ESC		Világosbarna-fekete	Bézs-színtelen

Cella	Reagent	Pozitív	Negatív
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.	Piros	Színtelen
		Egyes nem erjesztő fajok 18 óra inkubálást követően halvány rózsaszínt eredményezhetnek, amely negatívnak tekintendő.	
ONPG		Sárga	Színtelen
		Az áttetsző ONPG cellákat hasonlítsa össze a cetrimid cellákkal. Ha az ONPG a cetrimid cellához képest sárgás színt mutat, pozitívként jegyezze fel.	
CIT		Kék-kékeszöld	Zöld-sárga
MAL		A kék bármilyen árnyalata pozitívnak tekintendő	
TAR			
ACE			
CET		Növekedés	Nincs növekedés
OF/G			Ha az OF alap zöld: Zöld-kék
		Sárga	Ha az OF alap kék vagy kékeszöld: Kék
		Sárga-zöld	
		Hasonlítsa össze az OF/G cellát az OF alapszint kontrollcellával.	
NIT	Adjon hozzá 1 csepp 0,8%-os szulfanilsavat, majd 1 csepp 0,5%-os N, N-dimetil- α -naftilamint. Várjon legalább 5 percet a reakció lejátszódásához.	Piros	Színtelen – halvány rózsaszín
P ₄		Növekedés (Rezisztens)	Nincs növekedés (Érzékeny)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Az autoSCAN-4 és WalkAway rendszer paneljeinél csak felismeréshez.		

2. Az azonosítási reakciók alapelvei

Szénhidrát-fermentáció (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Egy adott szénhidrát fermentációja savképződést, valamint pH-esést eredményez, amely fenolvörös indikátor segítségével kimutatható.

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

Hidrogén-szulfid (H₂S): A hidrogén-szulfid (kénhidrogén) gáz nátrium-tioszulfátból képződik, és reakcióba lépve a tápközeg vas(III) ionjaival, fekete csapadékot képez.

Indol (IND): A triptofán metabolizmusa során indol keletkezik, amely Kovács-féle reagens hozzáadásával kimutatható. Indol jelenlétében piros szín alakul ki.

Lizin, arginin, ornitin (LYS, ARG, ORN): ezen aminosavak dekarboxilációja bázikus aminosavak képződését eredményezi, amelyek azután a brómkrezolbórral indikátor segítségével kimutathatók.

Triptofán-deamináz (TDA): A triptofán deaminálására képes baktériumok indol-piroszőlőssavat termelnek, amely a vas(III)-klorid hozzáadása után reakcióba lép a vas(III)-ammónium-citráttal a tápközegben, és barna színt képez.

Eszkulin-hidrolízis (ESC): Az eszkulin hidrolízisét a tápközegben lévő vas(III)-ammónium-citrát mutatja ki, amely reakcióba lép és fekete csapadékot képez a hidrolitikus termékkel.

Voges-Proskauer (VP): A nátrium-piruvátból acetoin keletkezik, amelyet a 40% kálium-hidroxid és 5% alfa-naftol hozzáadása után keletkező vörös szín jelez.

Galaktozidáz (ONPG): A β-galaktozidáz hidrolizálja az orto-nitrofenil-β-D-galaktopiranozidot, amely során felszabadul a citromsárga színű orto-nitrofenol.

Citrát, malonát, acetamid, tartrát (CIT, MAL, ACE, TAR): Ezen szubsztrátok mint az anyagcseréhez szükséges egyedüli szénforrások felhasználása a pH emelkedését eredményezi, amely brómtimolkék indikátorral kimutatható.

Oxidáció-fermentáció (OF/G): A glükóz oxidációja savképződést és pH-esést eredményez, amely brómtimolkék indikátorral kimutatható. Az OF/G összehasonlítható az OF/B (alap) eredményekkel annak meghatározása érdekében, hogy termelődött-e bármennyi sav.

Nitrát (NIT): Egy mikroorganizmus azon képessége, hogy képes-e a nitrátot nitritté redukálni, N,N-dimetil-α-naftilamin és szulfanilsav hozzáadásával kimutatható, amely nitrit jelenlétében piros színt eredményez.

Cetrimid (CET): A cetrimidtolerancia a cetrimiddel kiegészített Mueller–Hinton-tápcsoportban való növekedéssel demonstrálható.

Penicillin, kanamicin, kolisztin, cefalotin, nitrofurantoin, tobramicin (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Ezen antimikrobiális szerek specifikus koncentrációival szembeni rezisztenciát a növekedés mértéke demonstrálja.

3. Mikroorganizmusok identifikálása

A LabPro Information Manager információkezelőben és a Beckman Coulter weboldalán található Biotype Lookup Program ismeretlen teszt-mikroorganizmusok azonosítására szolgál. A program felsorolja a mikroorganizmus-azonosító(ka)t és ezek relatív azonosítási valószínűségét csökkenő valószínűségi sorrendben, legfeljebb 99,9% összesített értékig.

Ha olyan biotípus-szám fordul elő, amely „Nagyon ritka biotípus” eredményt ad, tekintse át a LabPro szoftvert (Utilities (Eszközök)>System (Rendszer)>Biotype Lookup (Biotípus kikeresése)), a Beckman Coulter weboldalán található Biotype Lookup Programot, vagy forduljon a Beckman Coulter képviselőjéhez vagy forgalmazójához.

A MÓDSZER KORLÁTAI

1. A *Haemophilus* és más tápigényes Gram-negatív baktériumok nem növekednek olyan Mueller–Hinton-tápcsoportban, amely nem tartalmaz növekedést elősegítő dúsító adalékokat.
2. Az itt leírt eljárások kizárólag a fakultatív anaerob és aerob Gram-negatív bacilusok esetében megfelelőek.
3. Ha az azonosítás eredményének valószínűsége kicsi (<85%), a végső azonosításhoz további tesztekre lehet szükség. (lásd MicroScan Biotype Lookup Program, 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 közegészségügyi szakembereket értesíteni kell minden olyan izolátumról, amelyek előzetes azonosításának eredménye: *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* vagy *F. tularensis*. Ezen baktériumizolátumok megerősítéséhez speciális vizsgálatokra lehet szükség, amelyek csak referencia- vagy közegészségügyi laboratóriumokban állnak rendelkezésre.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Kék, kékeszöld, zöld	Kék, kékeszöld	Kék, kékeszöld, zöld	Kék, kékeszöld, zöld
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Szürkétől sárgáig	Szürkétől sárgásszürkéig	Sárga	n.a.
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	n.a.
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	n.a.
To ₄ ²	-	-	-	n.a.

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Az egyes biokémiai vegyületek további pozitív vagy negatív reakcióinak leírása szükség esetén megtalálható a Kiegészítő tesztábrázatban.

3. A *P. aeruginosa* ATCC 27853 halvány rózsaszín árnyalatot hozhat létre VP-ben 18 órás inkubáció után, ami negatív eredménynek értelmezendő.

4. Az *E. coli* ATCC 25922 törzzsel gyenge pozitív reakció lehetséges, ha a paneleket 18 óránál hosszabb ideig inkubálják.

5. Lehet, hogy 48 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-azonosítások eltérhetnek a minőség-ellenőrzési táblázatban feltüntetettektől. A termékteljesítmény elfogadhatóságát nem azonosítással, hanem a teszteredmények összehasonlításával kell meghatározni.

Kiegészítő tesztábrázat

Mikroorganizmus	Szubsztrát	Várt eredmény
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Szárított Gram-neg. azonosítás – Korszerűsített azonosítású minőség-ellenőrzés ¹					
Minőség-ellenőrzési mikroorganizmus	ATCC-szám	Kulcs indikátor szubsztrát	Várt eredmény	A specifikációkon kívül eső eredmények	Bomlékony szubsztrát
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Igen
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Igen

1. A minőség-ellenőrzés kulcs indikátorai elérhetők a korszerűsített minőség-ellenőrzéshez az M50-A jelű CLSI dokumentum szerint.⁴ 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.

MINŐSÉGI JELLEMZŐK

A szárított Gram-negatív MicroScan azonosító panelek teljesítményjellemzőinek meghatározása multicentrikus vizsgálat keretében történt. A klinikai izolátumok és törzsek vizsgálatát szárított, 2-es típusú neg. azonosító panellel és hagyományos tesztcsöves módszerrel végezték, hogy képviselve legyen a rutin klinikai laboratóriumban várható baktériumpopuláció-típus. Az adatbázisban szereplő mikroorganizmusok teljes listája a Microbiology Information Manual (Mikrobiológiai információs kézikönyv) Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli Gram-negatív aerob bacillusok részt a Microbiology Information Manual-ben (Mikrobiológiai információs kézikönyv) az adatbázisban szereplő mikroorganizmusok teljes listájához.

A referencia-módszerrel való százalékos egyezés

# Tesztelt	Helyes azonosítás (szám)	Helyes azonosítás (%)
609	593	97,4

REPRODUKÁLHATÓSÁG

A reprodukálhatóság meghatározása egy minta ismétléseinek különböző körülmények között (például eltérő paneltípusok, napok, berendezések, felhasználók esetén) történő tesztelésével történik. Ezek lehetnek minőség-ellenőrzési (QC) törzsek, klinikai izolátumok vagy mindkettő. A globális egyezés $\geq 95\%$ volt.

JÓTÁLLÁSI NYILATKOZAT

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

A FELHASZNÁLÓ FIGYELMÉBE

A MicroScan panelekkel összefüggésben történt minden súlyos eseményt jelenteni kell a Beckman Coulter részére, valamint a felhasználó és/vagy a beteg lakhelye szerinti tagállam illetékes hatóságának.

ÁTDOLGOZÁSOK

ÁTDOLGOZÁS	DÁTUM	LEÍRÁS
AA	2022. május	Első kiadás
AB	2022. december	Frissítve: Reprodukálhatóság

Szimbólumok listája

A következő szimbólumok a Beckman Coulter mikrobiológiai termékeinek címkézésére használhatók.

Szimbólumok listája			
Szimbólum	Szimbólum megnevezése	Standard leírása	Standard
	Ne használja újra	Olyan gyógyászati eszközt jelöl, amely nem használható fel újra, azaz csak egyetlen eljárás során, egyetlen betegen használható.	ISO 15223-1, 5.4.2-es záradék
	Lejárat dátum	Azt a dátumot jelöli, amely után a gyógyászati eszköz már nem használható fel.	ISO 15223-1, 5.1.4-es záradék
	Tételkód	A tétel vagy a sarzs beazonosítására szolgáló gyártói tételkódot jelöli.	ISO 15223-1, 5.1.5-ös záradék
	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

Szimbólumok listája			
Szimbólum	Szimbólum megnevezése	Standard leírása	Standard
	Gyártás dátuma	A gyógyászati eszköz gyártásának dátumát jelöli.	ISO 15223-1, 5.1.3-as záradék
	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-ös záradék
	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-es záradék
	Olvassa el a használati utasítást	Arra utasítja a felhasználót, hogy tekintse át a használati utasítást.	ISO 15223-1, 5.4.3-as záradék
	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-es záradék
	Felfelé	A megfelelő függőleges helyzetet jelöli	ISO 7000: 0623
	Csak az Amerikai Egyesült Államokra vonatkozó adatok	Olyan információt jelöl, amely kizárólag az Egyesült Államokban eladásra kerülő termékek esetében szükséges.	n. a.
	Kizárólag orvosi rendelvényre	Az USA Élelmiszer- és Gyógyszer-engedélyezési Hivatala (FDA) az alábbi figyelmeztetés alternatívájaként ismeri el: „Figyelem! A szövetségi törvények értelmében ez az eszköz csak engedéllyel rendelkező egészségügyi szakemberek által vagy utasítására értékesíthető.”	21CFR 801.109(b)(1)
	Biológiai kockázat	Az orvostechikai eszközökhöz kapcsolódó potenciális biológiai kockázatot jelzi. Megjegyzés: Ez a jel nem azonos a munkahelyeken használandó „veszélyes biológiai anyag” jellel.	ISO 15223-1, 5.4.1-es záradék
	Veszély	n. a.	n. a.
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: Orvostechikai eszközök. Orvostechikai 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 Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

MicroScan

Instrukcja procedury identyfikacji bakterii Gram-ujemnych, typu 2, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

PRZEZNACZENIE

Panel MicroScan, ujemny, do identyfikacji, typu 2 jest wyrobem medycznym do diagnostyki *in vitro* przeznaczonym do jakościowej identyfikacji do poziomu gatunku szybko rosnących tlenowych i względnie beztlenowych pałeczek Gram-ujemnych z kolonii izolowanych. Metody inkubacji i określania wyników obejmują w pełni zautomatyzowany proces w analizatorach WalkAway lub niezautomatyzowaną inkubację offline z odczytem w analizatorach autoSCAN-4 lub ręcznym odczytem z opcją wprowadzania wyników do systemu zarządzania danymi LabPro.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

OMÓWIENIE I ZASADA DZIAŁANIA

Po inokulacji i powtórным uwodnieniu paneli standaryzowaną zawiesiną organizmów są one inkubowane przez minimum 16 godzin w temperaturze 35°C. Zmodyfikowane testy konwencjonalne i chromogenne używane są w celu identyfikacji fermentujących i niefermentujących pałeczek Gram-ujemnych. Identyfikacja jest oparta na wykrywaniu zmian pH, zużycia substratów i wzrostu w obecności środków przeciwdrobnoustrojowych po 16–42 godzinach inkubacji w temperaturze 35°C.¹

Panel typu 2 do identyfikacji ujemnej			
Substraty	Skrót	Substraty	Skrót
Glukoza	GLU	Test Vogesa-Proskauera	VP
Sukroza	SUC	Cytrynian	CIT
Sorbitol	SOR	Malonian	MAL
Rafinoza	RAF	o-nitrofenylo-β-D-galaktopiranozyd	ONPG
Ramnoza	RHA	Winian	TAR
Arabinoza	ARA	Acetamid	ACE
Inozytol	INO	Cetrymid	CET
Adonitol	ADO	Glukoza OF	OF/G
Melibioza	MEL	Zasada OF	OF/B
Mocznik	URE	Dekarboksylaza zasadowa	DCB
Siarkowodór	H ₂ S	Azotan	NIT
Indol	IND	Penicylina G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lizyna	LYS	Kanamycyna 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginina	ARG	Kolistyna 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornityna	ORN	Nitrofurantoina 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Deaminaza tryptofanu	TDA	Cefalotyna 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Eskulina	ESC	Tobramycyna 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Środki przeciwdrobnoustrojowe stosowane do identyfikacji.

ZNACZENIE KLINICZNE

Wyniki testu identyfikacji są stosowane w połączeniu z innymi wynikami laboratoryjnymi i wskaźnikami klinicznymi w celu udoskonalania terapii u pacjentów objawowych.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wyłącznie do stosowania w diagnostyce *in vitro*.
- 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.
- Materiał ten zawiera czynniki zakaźne i należy go usuwać zgodnie z zasadami usuwania niebezpiecznych odpadów biologicznych.
- Wyniki analizy systemu zawsze należy interpretować w połączeniu z wywiadem medycznym pacjenta, jego obrazem klinicznym i innymi czynnikami o znaczeniu diagnostycznym.
- Wyłącznie do jednorazowego użytku. Żadne panele MicroScan i materiały zużywalne nie powinny być używane ponownie, chyba że określono inaczej (np. tace z pokrywą).
- Ten produkt zawiera materiał(y) pochodzenia zwierzęcego z odwodnionych podłoży mikrobiologicznych. Podczas pracy z tym produktem należy przestrzegać ogólnych wytycznych dotyczących bezpieczeństwa.

PRZECHOWYWANIE

Panele wysuszonych bakterii gram-ujemnych należy przechowywać w temperaturze od 2°C do 25°C.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny



Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

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 PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Odpowiednie próbki powinny być pobierane, transportowane i posiewane na podstawowych podłożach wybiórczych zgodnie z procedurami zalecanymi w *Podręczniku mikrobiologii klinicznej*.²

MATERIAŁY DOSTARCZONE

Identyfikacja ujemna typu 2 (B1017-27)

Instrukcja procedury i kontroli jakości

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

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

10% chlorek żelaza, 30 mL (B1010-48A) lub 250 mL (B1015-48)

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

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

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

Wzorzec zmętnienia 0,5 w skali McFarlanda

Pipeta 100 µL

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

Tace pokrywowe (B1010-56B)

Ogólne wyposażenie laboratoryjne

Odczynnik Kovacsa, 30 mL (B1010-41A) lub 250 mL (B1015-41)

Arkusze robocze paneli (służące do zapisywania wyników odczytywanych w trybie ręcznym)

Przeglądarka mikrorozcieńczeń

Olej mineralny, 60 mL (B1010-40)

Olej mineralny, 250 mL (B1010-40A)

Odczynnik oksydazy

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

Formularze kontroli jakości

Zestaw pipet do wkraplania odczynników (B1013-12A)

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

Miernik zmętnienia

Worteksowanie

MATERIAŁY JEDNORAZOWEGO UŻYTKU

0,85% roztwór soli sterylizowany w autoklawie, 3 mL

Jednorazowe jałowe końcówki pipety

Zestaw do inokulacji D (B1013-4)

Woda inokulacyjna, 3 mL (B1015-2)

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

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

System Prompt® (B1026-10D)**

Paski uszczelniające (B1010-51)

Pokrywy na tace WalkAway (B1018-18)

PROCEDURA

Przygotowanie paneli

1. Wyjąć panele z miejsca przechowywania. Nie wolno używać, jeżeli opakowanie zostało uszkodzone (rozszczelnione, przekłute lub rozdarte).
2. Rozciąć torebkę i wyjąć panel. Jeżeli panel był przechowywany w lodówce, należy natychmiast wyjąć go z foliowej torebki.
3. **Nie należy stosować paneli w następujących sytuacjach:**
 - A. Brak jest pochłaniacza wilgoci lub jest on uszkodzony.
 - B. Zabarwienie studzienek panelu jest nieprawidłowe (np. DCB, różne środki przeciwbakteryjne).
4. Przed powtórным 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.

Przygotowanie inokulum

CLSI zaleca okresowe sprawdzanie gęstości inokulum metodą zliczania kolonii. Zalecenia dotyczące zliczania kolonii podano w dokumencie CLSI M07, wyd. 11. Oczekiwane wyniki dla szczepu *E. coli* ATCC 25922 powinny być bardzo zbliżone do wartości 5×10^5 CFU/mL dla końcowych stężeń badanych.³ Użytkownik powinien zwrócić szczególną uwagę na sporządzenie inokulum, zwłaszcza w przypadku stosowania metod ręcznych zależnych od techniki, takich jak system Prompt lub inokulum wykonywane bez pomocy urządzenia fotometrycznego.

1. Technika wzorca zmętnienia — podstawowa metoda inokulacji

Technika wzorca zmętnienia jest zalecana do bezpośredniej inokulacji wszystkich tlenowych pałeczek gram-ujemnych.

- 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).
- C. Dokładnie zamknąć i zworteksować zawiesinę przez 2–3 sekundy.
- D. Końcowe zmętnienie zawiesiny powinno odpowiadać wzorcowi zmętnienia 0,5 w skali McFarlanda. Równoważną mętność można uzyskać przy pomocy miernika zmętnienia MicroScan w zakresie $0,08 \pm 0,02$.
- E. Przenieść 0,1 mL (100 µL) 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 użyty w celu inokulacji pałeczek Gram-ujemnych. 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. Zbyt niskie inokulum może spowodować nieprawidłową identyfikację i błędny wynik testu wrażliwości.

Test oksydazowy

Przed inokulacją paneli należy przeprowadzić test oksydazowy. Zapisać wyniki we właściwym miejscu w arkuszu roboczym lub zgodnie z wymaganiami analizatorów. Wyniki testu oksydazowego pomagają w wydzieleniu taksonów i wczesnym raportowaniu organizmów niefermentujących (np. kompleksu *Acinetobacter baumannii*). W systemach WalkAway zaleca się wprowadzenie wyników testu oksydazowego przed wydrukowaniem kodów kreskowych. Niektóre organizmy niefermentujące mogą utrzymywać się przez czas do 42 godzin w zależności od wzrostu. Zalecanym odczynnikiem oksydazowym jest dichlorowodorek tetrametylo-p-fenyleneodiaminy.

Powtórne uwodnienie/inokulacja panelu

Powtórne uwodnienie i inokulacja są przeprowadzane za pomocą systemu RENOK z inokulatorami Inoculators-D (B1013-4). Sposób użycia opisano w dokumencie RENOK Operator's Manual (Instrukcja obsługi systemu RENOK). Jeżeli stosowany jest inny system, zawartość studzienki należy powtórnie uwodnić za pomocą $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ wody inokulacyjnej zawierającej środek PLURONIC. Należy osiągnąć końcowe stężenie w studzience na poziomie $3\text{--}7 \times 10^5$ CFU/mL. W celu zapewnienia

**3M, St. Paul, MN USA

żywołności i czystości badanych organizmów należy przygotować płytkę do zapewnienia czystości poprzez posiew redukcyjny inokulum na odpowiedniej płytce z agarem i inkubację w odpowiednich warunkach. Jeżeli na płytce do zapewnienia czystości występują co najmniej dwa rodzaje kolonii, należy je ponownie wyizolować i powtórzyć badanie.

Nakładanie na testy biochemiczne

1. Za pomocą wkraplacza pokryć studzienki GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN i DCB z użyciem 3 kropli 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: Systemy WalkAway (i systemy WalkAway z dodaną opcją automatycznego nakładania oleju) automatycznie dodają olej do odpowiednich studzienek.

Pasek uszczelniający

Wyłącznie w przypadku oksydazo-dodatnich drobnoustrojów Gram-ujemnych należy umieścić pasek uszczelniający na studzienkach CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B i DCB. Otwór ustalający o średnicy jednej czwartej cala należy ustawić nad studzienką DCB. W systemach WalkAway zamiast paska uszczelniającego wykorzystana jest pokrywa.

Inkubacja

1. Panele można inkubować w systemie WalkAway lub zewnętrznym 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 minimum 16 godzin w temperaturze 35°C w inkubatorze niezawierającym CO₂.

Odczyt z paneli

Panele mogą być odczytywane ręcznie, a wyniki zapisywane w arkuszu roboczym do paneli odczytywanych ręcznie lub w analizatorach MicroScan (systemy autoSCAN-4 i WalkAway). Szczegółowe informacje dotyczące odczytu paneli za pomocą analizatorów MicroScan można znaleźć w Podręczniku użytkownika.

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. Jeżeli studzienka kontrolna jest mętna lub gdy brak jest wzrostu w studzience wzrostu, nie należy odczytywać panelu. Zmętnienie może przyjąć formę białego zamglenia na całej powierzchni studzienki, białego punktu w jej środkowej części lub wyraźnego wzrostu ziarnistego w całej objętości. Za wzrost niewystarczający lub brak wzrostu 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 CET i środków przeciwbakteryjnych wykorzystywanych do identyfikacji (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), które powinny być odczytane na czarnym tle (nieoświetlonym bezpośrednio).
- B. Następujące substraty zawsze odczytuje się po 16–24 godzinach: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Jeśli którykolwiek z poniższych warunków jest prawdziwy:
 - a. Wynik dodatni dla GLU, SUC lub SOR lub
 - b. Wynik dodatni dla ARG i OF/G lub
 - c. Wynik dodatni dla ARG i CET lub
 - d. Wynik dodatni dla LYS lub
 - e. Wynik dodatni dla ORN lub
 - f. Wynik ujemny w przypadku OXI i wynik dodatni dla OF/G oraz wynik dodatni w przypadku Fd₆₄ MAL.

Następnie należy dodać odczynniki i odczytać pozostałe substraty po 16–24 godzinach inkubacji. Jeśli nie jest spełniony żaden z powyższych warunków, przed dodaniem odczynników i odczytaniem pozostałych substratów należy inkubować panele jeszcze przez 24 godziny.

- D. Jeżeli po powtórnej inkubacji drobnoustroj nadal wydaje się niereaktywny, należy upewnić się, że drobnoustroj wyrósł w węglowodanach czerwieni fenolowej (zwłaszcza, jeżeli wystąpił słaby wzrost lub brak wzrostu w kontroli wzrostowej Muellera-Hintona). Jeżeli nie doszło do wzrostu w węglowodanach czerwieni fenolowej, należy

podejrzewać, że badanym materiałem jest drobnoustrój wymagający szczególnych warunków pożywienia, taki jak halofilne gatunki *Vibrio*. Należy powtórzyć barwienie metodą Grama, aby potwierdzić, że drobnoustrój jest gram-ujemny.

- a. W przypadku klinicznego podejrzenia choroby spowodowanej halofilnym gatunkiem *Vibrio* należy powtórzyć badanie, emulsyfikując kilka kolonii w 3,0 mL sterylnego 0,85% roztworu soli i przeprowadzając dodatkowe testy, w tym wzrostu w podłożu bogatym w sól, zgodnie z zaleceniami oprogramowania. Końcowe zmętnienie zawiesiny powinno odpowiadać wzorcowi zmętnienia 0,5 w skali McFarlanda. Równoważne zmętnienie można uzyskać za pomocą miernika stopnia zmętnienia MicroScan w zakresie $0,08 \pm 0,02$. Powtórnie uwodnić panel za pomocą 25 mL nieposianej wody inokulacyjnej z zawartością PLURONIC, wykorzystując metodę RENOK. Za pomocą sterylnej pipety transferowej dodać jedną kroplę (45–50 μ L) zawiesiny soli do każdej ze studzienek identyfikacyjnych, w tym do studzienek wzrostowych, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ i Fd₆₄. Należy wykonać wszystkie pozostałe czynności przetwarzania paneli.

E. Przed odczytem należy dodać odczynniki jak poniżej:

- a. Do studzienki VP dodać 1 kroplę 40% wodorotlenku potasu (KOH) oraz 1 kroplę 5% alfa-naftolu. Odczekać co najmniej 20 minut, aż dojdzie do reakcji VP.
- b. Do studzienki TDA dodać 1 kroplę 10% chlorku żelaza. Kolor pojawi się natychmiast.
- c. Dodać 3 krople odczynnika Kovaca MicroScan do studzienki IND. Kolor pojawi się natychmiast.
UWAGA: Odczynnik Kovaca MicroScan jest specjalną substancją przeznaczoną do zastosowania z analizatorami MicroScan. Jeżeli panele odczytywane są ręcznie, wystarczy tylko jedna kropla.
- d. Dodać 1 kroplę 0,8% kwasu sulfanilowego, a następnie 1 kroplę 0,5% N,N-dimetylo-alfa-naftyloaminy do studzienki NIT. Przed odczytem należy odczekać co najmniej 5 minut na reakcję NIT.

F. W celu interpretacji reakcji biochemicznych należy zapoznać się z rozdziałem WYNIKI.

WYNIKI

1. Interpretacja testów biochemicznych

Studzienka	Odczynnik	Dodatni	Ujemny
GLU		Tylko kolor mocno żółty	Od pomarańczowego do czerwonego
		Niektóre drobnoustroje niefermentujące mogą wytwarzać kolor żółty, co powinno być traktowane jako wynik ujemny.	
SUC		Od żółtego do żółtopomarańczowego	Od pomarańczowego do czerwonego
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Od karminowego do różowego	Żółty, pomarańczowy lub jasnoróżowy
H ₂ S		Czarny osad lub czarny punkt	Brak szernienia
IND	Dodać 3 krople (lub jedną, jeśli panel jest odczytywany wzrokowo) odczynnika Kovaca MicroScan. Kolor pojawia się natychmiast.	Od różowego do czerwonego	Od bladożółtego do pomarańczowego
		<i>Providencia</i> sp. może wytwarzać pierścień bladnoróżowy, który powinien być traktowany jako wynik dodatni.	

Studzienka	Odczynnik	Dodatni	Ujemny
Porównać LYS, ARG i ORN z DCB. Aby poniższe wyniki były prawidłowe, te studzienki muszą być pokryte olejem. Kolor purpurowy jest uważany za wynik dodatni przy porównaniu z szarą studzienką DCB. Kolor szary jest uważany za wynik dodatni przy porównaniu z żółtą studzienką DCB. W przypadku drobnoustrojów niefermentujących dodatni wynik testu musi być znacząco bardziej purpurowy niż wynik testu z użyciem zasady. Jeżeli wynik testu z użyciem zasady jest purpurowy, otoczenie zasadowe zostało zalkalizowane, a LYS, ARG i ORN należy odczytać jako ujemne. Do takich sytuacji często dochodzi w przypadku gatunków <i>Achromobacter</i> i <i>Ochrobactrum anthropi</i> .			
LYS		Od purpurowego do szarego	Drobnoustroje fermentujące: Żółty
ARG			Drobnoustroje niefermentujące:
ORN		Purpurowy	Od bezbarwnego do szarego
TDA	Dodać 1 kroplę 10% chlorku żelaza. Kolor pojawia się natychmiast.	Dowolny odcień brązu	Od żółtego do pomarańczowego
ESC		Od jasnobrązowego do czarnego	Od beżowego do bezbarwnego
VP	Dodać 1 kroplę 40% KOH i 1 kroplę 5% alfa-naftolu. Odczekać co najmniej 20 minut, aż dojdzie do reakcji.	Czerwony	Bezbarwny
		Niektóre drobnoustroje niefermentujące mogą wytwarzać bladoróżowe zabarwienie po 18-godzinnej inkubacji, co powinno być traktowane jako wynik ujemny.	
ONPG		Żółty	Bezbarwny
		Porównać każdą studzienkę ONPG, która wydaje się czysta, ze studzienką cetrymidu. Jeżeli studzienka ONPG wykazuje dowolny odcień żółtego w porównaniu do studzienki z cetrymidem, wynik zapisać jako dodatni.	
CIT		Od niebieskiego do niebieskozielonego	Od zielonego do żółtego
MAL		Każdy odcień niebieskiego jest traktowany jako wynik dodatni	
TAR			
ACE			
CET		Wzrost	Brak wzrostu
OF/G		Żółty	Jeżeli studzienka zasady OF jest zielona: Od zielonego do niebieskiego
		Od żółtego do zielonego	Jeżeli studzienka zasady OF ma zabarwienie od niebieskiego do niebieskozielonego: Niebieski
		Porównać studzienkę OF/G ze studzienką zasady OF.	
NIT	Dodać 1 kroplę 0,8% kwasu sulfanilowego, a następnie 1 kroplę 0,5% N,N-dimetylo-alfa-naftyloaminy. Odczekać co najmniej 5 minut, aż dojdzie do reakcji.	Czerwony	Od bezbarwnego do bladoróżowego
P ₄		Wzrost (oporne)	Brak wzrostu (wrażliwe)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Wyłącznie w przypadku systemów rozpoznawania paneli autoSCAN-4 i WalkAway.		

2. Zasady reakcji identyfikacyjnych

Fermentacja węglowodanu (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Fermentacja węglowodanu powoduje tworzenie kwasu i spadek pH jest wykrywany przy użyciu wskaźnika czerwieni fenolowej.

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

Siarkowodór (H₂S): Siarkowodór powstaje z tiosiarczanu sodu i wchodzi w reakcję z jonami żelaza w podłożu, tworząc czarny osad.

Indol (IND): Indol powstaje w wyniku metabolizmu tryptofanu i jest wykrywany poprzez dodanie odczynnika Kovacs. W obecności indolu pojawia się czerwone zabarwienie.

Lizyna, arginina, ornityna (LYS, ARG, ORN): dekarboksylacja tych aminokwasów powoduje utworzenie amin zasadowych, które są wykrywane za pomocą wskaźnika purpury bromokrezolowej.

Deaminaza tryptofanu (TDA): Bakterie zdolne do deaminacji tryptofanu wytwarzają kwas indolopirogronowy, który wchodzi w reakcję z cytrynianem amonowo-żelazowym w podłożu po dodaniu chlorku żelaza, wskutek czego powstaje brązowe zabarwienie.

Hydroliza eskuliny (ESC): Hydroliza eskuliny jest wykrywana poprzez cytrynian amonowo-żelazowy w podłożu, który wchodzi w reakcję z produktami hydrolizy i tworzy czarny osad.

Test Vogesa-Proskauera (VP): Acetoina jest wytwarzana z pirogronianu sodu, a na jej obecność wskazuje czerwone zabarwienie powstające po dodaniu 40% wodorotlenku potasu oraz 5% alfa-naftolu.

Galaktozydaza (ONPG): β-galaktozydaza hydrolizuje orto-nitrofenilo-β-D-galaktopiranozyd, uwalniając żółty orto-nitrofenol.

Cytrynian, malonian, acetamid, winian (CIT, MAL, ACE, TAR): Wykorzystywanie tych substratów jako jedyne źródła węgla dla metabolizmu powoduje wzrost pH, który jest wykrywany przez wskaźnik błękit bromotymolowy.

Fermentacja oksydacyjna (OF/G): Utlenianie glukozy powoduje powstanie kwasu i spadek pH, który jest wykrywany przez błękit bromotymolowy. Porównanie OF/G do OF/B (zasada) pozwala ocenić, czy doszło do wytworzenia jakichkolwiek kwasów.

Azotan (NIT): Zdolność drobnoustroju do redukcji azotanu do azotynu jest wykrywana poprzez dodanie N,N-dimetylo-alfa-naftyloaminy i kwasu sulfanilowego, co daje czerwone zabarwienie w obecności azotynu.

Cetrymid (CET): Tolerancja na cetrymid jest wykazywana poprzez wzrost w bulionie Muellera-Hinton z dodatkiem cetrymidu.

Penicylina, kanamycyna, kolistyna, cefalotyna, nitrofurantoina, tobramycyna (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Oporność na określone stężenia tych środków przeciwbakteryjnych jest wykazywana przez wzrost.

3. Identyfikacja drobnoustrojów

Do identyfikacji nieznanymi drobnoustrojów poddawanych testowi służy Biotype Lookup Program (Funkcja wyszukiwania biotypów) w menedżerze informacji LabPro i na stronie Beckman Coulter. Program wylicza pasujące drobnoustroje i podaje prawdopodobieństwo względne poprawności ich identyfikacji w kolejności od najwyższego prawdopodobieństwa aż do zbiorczego prawdopodobieństwa 99,9%.

W razie pojawienia się numeru 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 serwisie Biotype Lookup Program (Funkcja wyszukiwania biotypów) na stronie internetowej firmy Beckman Coulter albo skontaktować się z przedstawicielem lub dystrybutorem firmy Beckman Coulter.

OGRANICZENIA METODY

1. *Haemophilus* i inne Gram-ujemne bakterie o wysokich wymaganiach nie będą rosły w bulionie Muellera-Hinton, który nie jest wzbogacony czynnikami wzbogacającymi wzrost.
2. Procedury opisane w niniejszym dokumencie mają zastosowanie wyłącznie w przypadku względnie beztlenowych i tlenowych bakterii Gram-ujemnych.
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 lub w podręczniku mikrobiologii).
4. Przed zaakceptowaniem identyfikacji drobnoustroju wyniki testu powinien zinterpretować wykwalifikowany personel kliniczny na podstawie własnej oceny, wiedzy i ewentualnych dodatkowych testów potwierdzających.
5. Numery biotypu nie powinny być używane do identyfikacji fenotypowej szczepów izolowanych z różnych próbek pobieranych od tego samego pacjenta.
6. Odpowiednie władze odpowiedzialne za ochronę zdrowia powinny być poinformowane o wszystkich izolatach przypuszczalnie zidentyfikowanych jako *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* lub *F. tularensis*.

Potwierdzenie obecności tych bakterii może wymagać specjalistycznych testów dostępnych w ośrodkach państwowych lub laboratoriach referencyjnych.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Niebieski, niebieskozielony, zielony	Niebieski, niebieskozielony	Niebieski, niebieskozielony, zielony	Niebieski, niebieskozielony, zielony
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Od szarego do żółtego	Od szarego do żółtoszarego	Żółty	ND.
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	ND.
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	ND.
To ₄ ²	-	-	-	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. *P. aeruginosa* ATCC 27853 może wywołać bladoróżowe zabarwienie w teście VP po 18 godzinach inkubacji, co należy interpretować jako wynik ujemny.

4. Słaba reakcja dodatnia może być obserwowana w przypadku *E. coli* ATCC 25922, jeśli panele są inkubowane dłużej niż przez 18 godzin.

5. Może wymagać 48 godzin inkubacji.

ND. = nie dotyczy

UWAGA: drobnoustroje służące do kontroli jakości są wybrane w celu zapewnienia dodatnich/ujemnych reakcji dla wszystkich substratów identyfikacyjnych. W wyniku tego, 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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Drobnoustrój	substrat	Wynik oczekiwany
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Test identyfikacji wysuszonych bakterii Gram-ujemnych — poprawiony identyfikator QC ¹					
Drobnoustrój QC	Numer ATCC	Główny substrat wskaźnikowy	Wynik oczekiwany	Wynik poza zakresem specyfikacji	Substrat labilny
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Tak
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Tak

1. Główne wskaźniki do kontroli jakości są podane dla poprawionej QC w dokumencie CLSI M50-A.⁴ Przed wprowadzeniem poprawionej QC należy sprawdzić szczegóły w dokumencie M50-A oraz uzyskać akceptację odpowiednich instytucji zajmujących się kontrolą i inspekcją.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI

Charakterystyka paneli MicroScan wysuszonych bakterii gram-ujemnych została opracowana na podstawie badania wieloośrodkowego. Izolaty kliniczne i szczepy komercyjne były badane na panelach wysuszonych bakterii gram-ujemnych ID typu 2 i konwencjonalną metodą probówkową, reprezentując typy populacji bakteryjnych, jakie można spotkać w codziennej praktyce w laboratorium klinicznym. Pełna lista mikroorganizmów wymienionych w bazie danych, patrz panele wysuszonych bakterii gram-ujemnych (konwencjonalne): część Gram-Negative Aerobic Bacilli (Palczki tlenowe gram-ujemne) w dokumencie Microbiology Information Manual (Podręcznik mikrobiologii).

Zgodność procentowa z metodami referencyjnymi

Liczba badanych	Liczba poprawnych identyfikacji	% poprawnych identyfikacji
609	593	97,4

ODTWARZALNOŚĆ

Odtwarzalność jest określana poprzez badanie wielu powtórzeń w różnych warunkach (np. różne serie paneli, dni, analizatory, użytkownicy). Może to obejmować szczepy QC i/lub izolaty kliniczne. Ogólna zgodność wyniosła ≥ 95%.

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.

INFORMACJA DLA UŻYTKOWNIKA

Każdy poważny incydent, który wystąpił w związku z panelami MicroScan, należy zgłosić firmie Beckman Coulter i właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik lub pacjent mają miejsce zamieszkania.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA	DATA	OPIS
AA	Maj 2022 r.	Pierwsze wydanie
AB	Grudzień 2022 r.	Zaktualizowano: Odtwarzalność

Legenda symboli

Następujące symbole mogą być stosowane do oznakowania produktów mikrobiologicznych firmy Beckman Coulter.

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, punkt 5.4.2
⌚	Termin ważności	Wskazuje datę, po upływie której urządzenie medyczne nie nadaje się do użytku.	ISO 15223-1, punkt 5.1.4
LOT	Kod partii	Wskazuje kod partii producenta, dzięki któremu można zidentyfikować partię lub serię.	ISO 15223-1, punkt 5.1.5

Legenda symboli			
Symbol	Nazwa symbolu	Opis normy	Standard
	Numer katalogowy	Wskazuje numer katalogowy producenta, dzięki któremu można zidentyfikować urządzenie medyczne.	ISO 15223-1, punkt 5.1.6
	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, punkt 5.1.3
	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	Wskazuje autoryzowanego przedstawiciela we Wspólnocie Europejskiej.	ISO 15223-1, punkt 5.1.2
	Wystarczy na wykonanie <n> testów	Wskazuje całkowitą liczbę testów IVD, które można przeprowadzić za pomocą danego testu IVD. (Zazwyczaj umieszczone na zestawach odczynników).	ISO 15223-1, punkt 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, punkt 5.3.7
	Zapoznać się z instrukcją użycia	Wskazuje konieczność zapoznania się z instrukcją użycia.	ISO 15223-1, punkt 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, punkt 5.3.1
	Tą stroną do góry	Wskazuje prawidłową pozycję pionową	ISO 7000: 0623
	Informacje wyłącznie dla USA	Wskazuje informacje, które są wymagane wyłącznie w przypadku produktów przeznaczonych do sprzedaży w Stanach Zjednoczonych.	ND.
	Wyłącznie do stosowania z przepisu lekarza	Uznawane przez amerykańską agencję FDA jako alternatywa dla zapisu „Przestroga: Prawo federalne zezwala na sprzedaż niniejszego urządzenia wyłącznie przez lekarza mającego prawo wykonywania zawodu lub na jego zlecenie”	21CFR 801.109(b)(1)
	Zagrożenia biologiczne	Wskazuje na występowanie potencjalnych zagrożeń biologicznych związanych z wyrobem medycznym. Uwaga: symbolu tego nie należy mylić ze znakiem „Zagrożenie biologiczne” przeznaczonym do użytku w miejscu pracy.	ISO 15223-1, punkt 5.4.1
	Niebezpieczeństwo	ND.	ND.
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 w tym dokumencie 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

Procesní příručka pro gramnegativní ID2, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

URČENÉ POUŽITÍ

Panel MicroScan neg. ID typu 2 je zdravotnický prostředek pro diagnostiku *in vitro* určený ke kvalitativnímu stanovení identifikace rychle rostoucích aerobních a fakultativně anaerobních gramnegativních bacilů na úrovni druhu z izolovaných kolonií. Metody inkubace a stanovení výsledků zahrnují úplnou automatizaci na přístrojích WalkAway nebo neautomatizovanou offline inkubaci se čtením na přístroji autoSCAN-4 nebo manuálním čtením s možností zadat výsledky do systému pro správu dat LabPro.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

SHRNUTÍ A PRINCIP

Po naočkování a rehydrataci standardní suspenzí organismu jsou panely inkubovány minimálně po dobu 16 hodin při teplotě 35 °C. Pro identifikaci fermentujících a nefermentujících gramnegativních bacilů se používají modifikované konvenční a chromogenní testy. Identifikace je založena na detekci změn pH, využití substrátu a nárůstu v přítomnosti antimikrobiálních činidel po inkubaci 16–42 hodin při teplotě 35 °C.¹

Neg ID panel typu 2			
Substráty	Zkr.	Substráty	Zkr.
Glukóza	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sacharosa	SUC	Citrát	CIT
Sorbitol	SOR	Malonát	MAL
Rafinóza	RAF	o-nitrofenyl-β-D-galaktopyranosid	ONPG
Rhamnóza	RHA	Tartrát	TAR
Arabinóza	ARA	Avetamid	ACE
Inositol	INO	Cetrimid	CET
Adonitol	ADO	Glukóza OF	OF/G
Melibióza	MEL	Základní kontrola OF	OF/B
Močovina	URE	Základní kontrola dekarboxylázy	DCB
Sirovodík	H ₂ S	Nitrát	NIT
Indol	IND	Penicilin G 4 µg/ml ¹	P ₄
Lysin	LYS	Kanamycin 4 µg/ml ¹	K ₄
Arginin	ARG	Kolistin 4 µg/ml ¹	Cl ₄
Ornitin	ORN	Nitrofurantoin 64 µg/ml ¹	Fd ₆₄
Tryptofan deamináza	TDA	Cefalotin 8 µg/ml ¹	Cf ₈
Eskulin	ESC	Tobramycin 4 µg/ml ¹	To ₄

1. Antimikrobika používaná pro identifikaci.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

Výsledky identifikačních testů se používají ve spojení s dalšími laboratorními výsledky a klinickými ukazateli k nasazení přesnější terapie u symptomatických pacientů.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
2. Při všech postupech používejte aseptické techniky a dodržujte zavedená preventivní opatření proti mikrobiologickým rizikům. Obzvláště mějte na paměti, že inokulované panely obsahují potenciálně patogenní organismy.
3. Tento materiál obsahuje infekční agens a měl by být likvidován podle postupů vhodných pro biologicky nebezpečný odpad.
4. Výsledky tohoto testu by vždy měly být interpretovány ve spojení s lékařskou anamnézou pacienta, klinickými projevy a dalšími nálezy.
5. Pouze na jedno použití. Žádné panely MicroScan a spotřební materiály nesmí být používány opakovaně, pokud není uvedeno jinak (např. kryty).
6. Tento výrobek obsahuje materiál(y) živočišného původu z dehydratovaných mikrobiologických médií. Při manipulaci s tímto produktem dodržujte obecné bezpečnostní směrnice pro ochranu.

SKLADOVÁNÍ

Vysušené gramnegativní panely musí být skladovány při teplotě 2–25 °C.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné



Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Expozice dlouhodobému skladování za jiných než doporučených podmínek může ve výsledku docházet k hydrolýze identifikačních substrátů. Nepoužívejte po uplynutí data expirace. Další informace vám na vyžádání poskytne zástupce nebo distributor společnosti Beckman Coulter.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Vhodné vzorky by měly být odebrány, transportovány a umístěny na primární izolační médium podle doporučených postupů v dokumentu *Manual of Clinical Microbiology* (Příručka klinické mikrobiologie).²

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Neg ID typu 2 (B1017-27)

Procesní příručka a příručka kontroly kvality

VYŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTNUTÉ MATERIÁLY

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

10% chlorid železitý, 30 ml (B1010-48A) nebo 250 ml (B1015-48)

0,5% N,N-dimetyl-alfa-naftylamin, 30 ml (B1010-45A) nebo 250 ml (B1015-45)

40% hydroxid draselný, 30 ml (B1010-43A) nebo 250 ml (B1015-43)

0,8% kyselina sulfanilová, 30 ml (B1010-44A) nebo 250 ml (B1015-44)

McFarlandův standard zákalu stupně 0,5

Pipeta na 100 µl

Papír na štítky s čárovým kódem (B1018-129)

Kryty (B1010-56B)

Běžné laboratorní vybavení

Kováčovo činidlo, 30 ml (B1010-41A) nebo 250 ml (B1015-41)

Pracovní list pro ruční panel (používaný pro záznam manuálně odečítaných výsledků)

Prohlížeč mikroředění

Minerální olej, 60 ml (B1010-40)

Minerální olej, 250 ml (B1010-40A)

Oxidázové činidlo

Organismy pro kontrolu kvality (viz oddíl QC v této příručce)

Formuláře protokolu o kontrole kvality

Sada kapátek na reagentie (B1013-12A)

Rehydratační/inokulační systém RENOK (B1018-14) nebo ekvivalentní

Turbidimetr

Vortexová míchačka

MATERIÁLY NA JEDNO POUŽITÍ

0,85% autoklávovaný fyziologický roztok, 3 ml

Jednorázové sterilní špičky pipet

Sada Inoculator-D (B1013-4)

Inokulační voda, 3 ml (B1015-2)

Inokulační voda s přípravkem PLURONIC®, 25 ml (B1015-7)*

*Surfaktanty PLURONIC®. Registrovaná ochranná známka společnosti BASF Corporation, Parsippany, NJ USA.

Inokulační systém Prompt® (B1026-10D)**

Těsnicí proužky (B1010-51)

Víka zásobníků WalkAway (B1018-18)

POSTUP

Příprava panelu

1. Vyjměte panely, které chcete použít, ze skladovacího prostoru. Nepoužívejte je, pokud je obal poškozený (rozlepený, proděravělý nebo roztržený).
2. Rozřízněte sáček a vyjměte panel. Pokud byl panel skladován v lednici, ihned ho vyjměte ze sáčku.
3. **Panely by se neměly používat, pokud:**
 - A. Není přítomno vysoušecí činidlo nebo je roztržené.
 - B. Jamky panelu změnila barvu (např. DCB, různá antimikrobika).
4. Před rehydratací nechte panely vytemperovat na pokojovou teplotu. Panely můžete skládat na sebe, na vrchním musí být čistý kryt. Všechny otevřené panely by se měly zpracovat ve stejný den, jinak by se měly vyhodit.

Příprava inokula

CLSI doporučuje pravidelně kontrolovat hustotu inokula počítáním kolonií. Doporučení pro počítání kolonií uvádí dokument CLSI M07, 11. vyd. Očekávané výsledky pro konečné testovací koncentrace pro *E. coli* ATCC 25922 se mají blížit 5×10^5 CFU/ml.³ Uživatel by měl věnovat zvláštní pozornost přípravě inokula, obzvláště u manuálních metod, které jsou závislé na technice, jako je použití systému Prompt nebo příprava inokula bez pomoci fotometrického zařízení.

1. Standardní technika stanovení turbidity – metoda primárního inokula

Standardní metoda stanovení turbidity se doporučuje pro přímou inokulaci všech aerobních gramnegativních bacilů.

- A. Sterilním aplikátorem, kličkou nebo tamponem se dotkněte povrchu 4–5 velkých nebo 5–10 malých, morfologicky podobných, dobře izolovaných kolonií z 18–24 hodin staré neinhibiční agarové misky.
- B. Stěr emulzifikujte ve 3 ml inokulační vody (autoklávovaná deionizovaná voda).
- C. Pevně uzavřete víčkem a vortexujte suspenzi po dobu 2–3 sekund.
- D. Konečná turbidita by měla být shodná s 0,5 McFarlandovým standardem pro měření turbidity. Ekvivalentního zákalu lze dosáhnout pomocí turbidimetru MicroScan s analytickým rozsahem měření $0,08 \pm 0,02$.
- E. Napipetujte 0,1 ml (100 µl) standardizované suspenze do 25 ml inokulační vody s přípravkem PLURONIC. Pevně uzavřete víčkem. Roztok 8–10 krát převraťte, aby se promíchal.

2. Systém Prompt

Systém Prompt lze použít k inokulaci gramnegativních bacilů. Správné použití systému Prompt je popsáno v dokumentu Prompt Inoculation Procedural Manual (Procesní příručka inokulačního systému Prompt).

POZNÁMKA: Používejte opatrně. K nedostatečné inokulaci může dojít u organismů, které nesplňují požadavek na velikost. Nedostatečná inokulace by mohla způsobit nesprávnou vnímavost a výsledky identifikačního testu.

Oxidázový test

Před inokulací panelu proveďte oxidázový test. Výsledky zaznamenejte na příslušné místo v pracovním listu, nebo se držte pokynů k přístrojovému vybavení. Výsledky oxidázového testu napomáhají při rozdělování do taxonomických jednotek a při časně identifikaci nefermentujících organismů (např. komplexu *Acinetobacter baumannii*). Pro systémy WalkAway se doporučuje zadat výsledky oxidázového testu ještě před vytištěním čárových kódů. Některé nefermentující organismy se mohou držet až 42 hodin v závislosti na nárůstu. Doporučená oxidázová reagentie je tetrametyl-p-fenyldiamin-dihydrochlorid.

Rehydratace/inokulace panelu

Rehydratace a inokulace se provádí pomocí systému RENOK s použitím sad Inoculators-D (B1013-4). Více informací najdete v dokumentu RENOK Operator's Manual (Návod k obsluze systému RENOK). Pokud používáte jiný systém, rehydratujte pomocí $115 \mu\text{l} \pm 10 \mu\text{l}$ vody pro inokulum s látkou PLURONIC. Konečná koncentrace v jamce má být $3\text{--}7 \times 10^5$ CFU/ml. Aby byla zaručena životaschopnost a čistota testovaného organismu, má se provádět kontrola čistoty kultury roztěrem inokula na misku s vhodným agarem a inkubací za vhodných podmínek. Pokud se na misce pro kontrolu čistoty kultury nachází dva nebo více typů kolonií, proveďte reizolaci kolonií a test zopakujte.

Biochemické převrstvení

1. Pomocí lahvičky s kapátkem převrstvěte jamky GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN a DCB 3 kapkami minerálního oleje. Tyto jamky jsou na panelu podtržené.

**3M, St. Paul, MN USA.

2. Médium v jamkách musí být zcela překryto minerálním olejem, ale olej nesmí z jamek přetékat.

POZNÁMKA: Systémy WalkAway (a systémy WalkAway s funkcí automatického převrstvení olejem) automaticky přidají olej do příslušných jamek.

Těsnicí proužek

U oxidáza pozitivních gramnegativních organismů umístěte těsnicí proužek přes jamky CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B a DCB. Čtvrtpalcový lokalizační otvor v pásce by měl být zarovnaný nad jamkou DCB. U systému WalkAway se namísto těsnicího proužku používá víko.

Inkubace

1. Panely se mohou inkubovat v systému WalkAway nebo mimo přístroj podle následujících kroků:
 - A. Aby byla zajištěna rovnoměrná distribuce tepla během inkubace, naskládejte panely na sebe ve skupinách po 3–5.
 - B. Na každou skupinu panelů nasadte kryt, abyste zabránili odpařování. Kryty lze používat opakovaně. Neprovádějte dekontaminaci krytů alkoholem. Je možné čistit je mýdlovou vodou. Dobře je opláchněte a nechte je uschnout na vzduchu.
 - C. Inkubujte panely minimálně 16 hodin při teplotě 35 °C v inkubátoru, který není inkubátorem CO₂.

Vyhodnocování panelů

Panely lze odečítat manuálně a výsledky zaznamenávat do pracovního listu pro manuální odečet panelu nebo pomocí přístroje MicroScan (systémy autoSCAN-4 a WalkAway). Informace o odečítání panelů pomocí přístroje MicroScan naleznete v Návodu k obsluze přístroje.

1. Po 16–20 hodinách inkubace vyjměte panely z inkubátoru.
2. Případnou zkondenzovanou tekutinu nebo odpad přítomný na spodku panelů otřete látkou, která nepouští vlákna.
3. Provádějte odečet panelů, pouze je-li kontrolní jamka čirá a růstová jamka vykazuje zákal. Neprovádějte odečet panelu, pokud je jamka kontroly zakalená nebo pokud v růstové jamce nedošlo k nárůstu. Turbidita může vypadat jako bílá mlha v celé jamce, jako bílá skvrna ve středu jamky nebo jako jemný granulární nárůst v celé jamce. Nedostatečný nárůst nebo absence nárůstu jsou definovány čírostí živné půdy nebo mírným zběláním jamky.
4. Pokud jsou výsledky odečítány manuálně, zaznamenejte je do příslušného pracovního listu.

5. Odečítání identifikačních substrátů

- A. Odečtěte všechny identifikační substráty oproti bílému pozadí, kromě CET a antimikrobik použitých k identifikaci (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), jež by se měly odečítat oproti černému (nepřímo osvětlenému) pozadí.
- B. Následující substráty se vždy odečítají po 16–24 hodinách: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Pokud platí kterákoli možnost z následujících:
 - a. GLU nebo SUC nebo SOR pozitivní, nebo
 - b. ARG pozitivní a OF/G pozitivní nebo
 - c. ARG pozitivní a CET pozitivní nebo
 - d. LYS pozitivní nebo
 - e. ORN pozitivní nebo
 - f. OXI negativní a OF/G pozitivní a Fd₆₄ pozitivní a MAL pozitivní.

Poté přidejte reagencie a zbývající substráty odečtěte po 16–24hodinové inkubaci. Pokud neplatí žádná z výše uvedených podmínek, dejte panely znovu inkubovat na dalších 24 hodin a poté přidejte reagencie a odečtěte zbývající substráty.

- D. Pokud se organismus po reinkubaci stále zdá být nereaktivní, zkontrolujte, zda narostl v sacharidové živné půdě s fenolovou červení (zejména zkontrolujte, jestli v růstové kontrole Mueller-Hintonové nedošlo ke slabému nebo nulovému nárůstu). Pokud v sacharidové živné půdě s fenolovou červení nedošlo k nárůstu, měli byste předpokládat, že se jedná o růstově náročný organismus, např. halofilní druhy *Vibrio*. Gramovým barvením by se mělo potvrdit, že se jedná o gramnegativní organismus.
 - a. Pokud předpokládáte klinicky významné onemocnění způsobené halofilními druhy *Vibrio*, emulzifikujte několik kolonií ve 3,0 ml sterilního 0,85% fyziologického roztoku a zopakujte test. Navíc proveďte dodatečné testování, včetně růstu ve slaných podmínkách (podle doporučení softwaru). Konečná turbidita by měla odpovídat McFarlandovu standardu zákalu stupně 0,5. Ekvivalentního zákalu lze dosáhnout pomocí turbidimetru MicroScan s rozsahem 0,08 ± 0,02. Rehydratujte panel pomocí 25 ml nezaočkované inokulační vody s přípravkem PLURONIC v systému RENOK. Sterilní pipetou přidejte jednu kapku (45–50 µl) slané suspenze do každé identifikační jamky, včetně růstových jamek a jamek Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ a Fd₆₄. Měly by být dodrženy všechny ostatní kroky zpracování panelu.

E. Před odečtem přidejte reagenty podle následujícího popisu:

- Přidejte 1 kapku 40% hydroxidu draselného (KOH) a 1 kapku 5% alfa-naftolu do jamky VP. Počkejte alespoň 20 minut, než se rozvine reakce VP.
- Přidejte 1 kapku 10% chloridu železitého do jamky TDA. Ke zbarvení dojde ihned.
- Přidejte 3 kapky Kováčova činidla MicroScan do jamky IND. Ke zbarvení dojde ihned.
POZNÁMKA: Kováčovo činidlo MicroScan má speciální složení navržené pro použití s přístrojovým vybavením MicroScan. Pokud jsou panely vyhodnocovány manuálně, používá se pouze jedna kapka.
- Přidejte 1 kapku 0,8% kyseliny sulfanilové a poté 1 kapku 0,5% N,N-dimetyl-alfa-naftylaminu do jamky NIT. Před hodnocením počkejte alespoň 5 minut, než se rozvine reakce NIT.

F. V biochemické interpretaci vám pomůže oddíl VÝSLEDKY.

VÝSLEDKY

1. Biochemická interpretace

Jamka	Reagencie	Pozitivní	Negativní
GLU		Pouze výrazně žlutá	Oranžová až červená
		Některé nefermentující organismy mohou vytvářet zlatavé zbarvení, které by se mělo považovat za negativní.	
SUC		Žlutá až žlutá/oranžová	Oranžová až červená
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Purpurová až růžová	Žlutá, oranžová nebo světle růžová
H ₂ S		Černý precipitát nebo černá skvrna	Bez zčernání
IND	Přidejte 3 kapky Kováčova činidla MicroScan (nebo jednu kapku, pokud se panel odečítá vizuálně). Dojde k okamžitému zbarvení.	Růžová až červená	Bledě žlutá až oranžová
		Kmeny <i>Providencia</i> sp. mohou vytvářet bledě růžový prstenec, který by se měl považovat za pozitivní.	
Porovnejte LYS, ARG a ORN s DCB. Tyto jamky musí být převrstveny olejem, jinak výsledky nejsou platné. Purpurová se považuje za pozitivní při porovnání s šedou jamkou DCB. Šedá se považuje za pozitivní při porovnání se žlutou jamkou DCB. Pro nefermentující organismy musí mít pozitivní test podstatně intenzivnější purpurové zbarvení než základní kontrola. Pokud je základní kontrola purpurová, bylo bazální médium alkalizováno a jamky LYS, ARG a ORN by se měly zaznamenat jako negativní. Toto chování je často pozorováno u druhů <i>Achromobacter</i> a <i>Ochrobactrum anthropi</i> .			
LYS		Purpurová až šedá	Fermentující: Žlutá
ARG			Nefermentující:
ORN		Purpurová	Bez barvy až šedá
TDA	Přidejte 1 kapku 10% chloridu železitého. Dojde k okamžitému zbarvení.	Jakýkoliv odstín hnědé	Žlutá až oranžová
ESC		Světle hnědá až černá	Béžová až bez barvy
VP	Přidejte 1 kapku 40% KOH a 1 kapku 5% alfa-naftolu. Počkejte alespoň 20 minut, než se rozvine reakce.	Červená	Bezbarvá
		Některé nefermentující organismy mohou po 18hodinové inkubaci vytvářet bledě růžové zbarvení, které by se mělo považovat za negativní.	

Jamka	Reagencie	Pozitivní	Negativní
ONPG		Žlutá	Bezbarvá
		Porovnejte kteroukoliv čistou jamku ONPG s jamkou cetrimidu. Pokud je v jamce ONPG žlutá barva jakékoliv intenzity v porovnání s jamkou cetrimidu, zaznamenejte výsledek jako pozitivní.	
CIT		Modrá až modrozelená	Zelená až žlutá
MAL		Jakýkoliv odstín modré se považuje za pozitivní.	
TAR			
ACE			
CET		Nárůst	Bez nárůstu
OF/G			Pokud je základní kontrola OF zelená:
		Žlutá	Zelená až modrá
			Pokud je základní kontrola OF modrá až modrozelená:
		Žlutá až zelená	Modrá
		Srovnajte jamku OF/G se základní kontrolou OF.	
NIT	Přidejte 1 kapku 0,8% kyseliny sulfanilové a poté 1 kapku 0,5% N,N-dimetyl-alfa-naftylaminu. Počkejte alespoň 5 minut, než se rozvine reakce.	Červená	Bez barvy až bledě růžová
P ₄		Nárůst (rezistentní)	Bez nárůstu (citlivý)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Pouze při odečítání panelu na systému autoSCAN-4 a WalkAway.		

2. Principy identifikačních reakcí

Fermentace sacharidu (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Fermentací určitého sacharidu vzniká kyselina a dochází k poklesu hodnoty pH, který je detekován indikátorem s fenolovou červení.

Močovina (URE): Enzym ureáza štěpí močovinu za vzniku amoniaku. Výsledné zvýšení hodnoty pH je detekováno indikátorem s fenolovou červení.

Sirovodík (H₂S): Plyný sirovodík vzniká z thiosíranu sodného a v médiu reaguje s trojmocnými ionty železa za vzniku černého precipitátu.

Indol (IND): Metabolismus tryptofanu vede k tvorbě indolu, který se detekuje přidáním Kováčovy reagensie. Přítomnost indolu se projeví zčervenáním.

Lysin, arginin, ornithin (LYS, ARG, ORN): Dekarboxylace těchto aminokyselin vede ke vzniku alkalických aminů, které jsou detekovány indikátorem s bromkresolovou červení.

Tryptofan deamináza (TDA): Bakterie schopné deaminace tryptofanu produkují kyselinu pyrohroznovou, která reaguje s citrátem železito-amonným v médiu po přidání chloridu železitého za vzniku hnědé barvy.

Hydrolyza eskulinu (ESC): Hydrolyza eskulinu je detekována pomocí citrátu železito-amonného v médiu, který reaguje s produkty hydrolyzy za vzniku černého precipitátu.

Voges-Proskauer (VP): Acetoin vzniká z pyruvátu sodného a je indikován červenou barvou po přidání 40% hydroxidu draselného a 5% alfa-naftolu.

Galaktosidáza (ONPG): β-galaktosidáza hydrolyzuje ortho-nitrofenyl-β-D-galaktopyranosid, který uvolňuje žlutě zabarvený ortho-nitrofenol.

Citrát, malonát, acetamid, tartrát (CIT, MAL, ACE, TAR): Využití těchto substrátů, jako jediného zdroje metabolismu má za následek zvýšení hodnoty pH, která je detekována indikátorem s bromthymolovou modří.

Oxidace-fermentace (OF/G): Oxidací glukózy vzniká kyselina a dochází k poklesu hodnoty pH, který je detekován indikátorem s bromthymolovou modří. OF/G je srovnáno s OF/B (základní kontrola) pro stanovení, zda vznikla nějaká kyselina.

Dusičnan (NIT): Schopnost organismu redukovat dusičnan na dusitan se detekuje přidáním N,N-dimethyl-alfa-naftylaminu a kyseliny sulfanilové, kdy tyto látky v přítomnosti dusitanu vytvářejí červené zbarvení.

Cetrimid (CET): Snášlivost k cetrimidu je demonstrována nárůstem v Mueller-Hintonově bujónu obohaceném cetrimidem.

Penicilin, kanamycin, kolistin, cefalotin, nitrofurantoin, tobramycin (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Rezistence vůči specifickým koncentracím těchto antimikrobiálních činidel je demonstrována nárůstem.

3. Identifikace organismu

K identifikaci neznámých testovaných organismů slouží program Biotype Lookup Program v LabPro Information Manager (Správce informací LabPro) a na webových stránkách společnosti Beckman Coulter. Program uvádí identifikaci organismů společně s relativními pravděpodobnostmi seřazenými od nejvyšší hodnoty (s maximální hodnotou 99,9 %).

Pokud se vyskytne číslo biotypu, které vede k výsledku s hodnotou „Very Rare Biotype“ (Velmi vzácný biotyp), najdete si pokyny v softwaru LabPro (Utilities (Nástroje) > System (Systém) > Biotype Lookup (Hledání biotypů)) nebo v programu Biotype Lookup Program na webových stránkách společnosti Beckman Coulter nebo se poraďte se zástupcem nebo distributorem společnosti Beckman Coulter.

OMEZENÍ POUŽITÍ SOUPRAVY

1. *Haemophilus* a jiné růstově náročné gramnegativní bakterie neporostou na Mueller-Hintonově bujónu, pokud do něj nejsou doplněna růstová obohacovadla.
2. Procesy popsané v tomto dokumentu jsou vhodné pouze pro fakultativně anaerobní a aerobní gramnegativní bacily.
3. Při identifikaci s nízkou pravděpodobností (< 85 %) může být pro finální identifikaci nezbytné provést další testy (viz program MicroScan Biotype Lookup Program nebo mikrobiologickou příručku).
4. Výsledky testu musí interpretovat kvalifikovaný klinický personál s odpovídajícími znalostmi, který analýzu posoudí a případně provede nezbytné dodatečné potvrzující testy, a teprve poté přijme danou identifikaci organismu.
5. Čísla biotypu by se neměla používat pro identifikaci fenotypu kmenů izolovaných z různých vzorků od stejného pacienta.
6. O všech izolátech pravděpodobně identifikovaných jako *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* nebo *F. tularensis* mají být informovány úřady veřejného zdravotnictví. Potvrzení izolátů těchto bakterií může vyžadovat specializované testování dostupné pouze v referenčních laboratořích nebo v laboratořích veřejného zdravotnictví.

KONTROLA KVALITY

Přijatelnost identifikačních médií se má zkontrolovat testováním organismů se známými reakcemi. V tabulce uvedené níže jsou uvedeny výsledky pro doporučené kontrolní organismy ze sbírky American Type Culture Collection (ATCC).*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Modrá, modrozelená, zelená	Modrá, modrozelená	Modrá, modrozelená, zelená	Modrá, modrozelená, zelená
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Šedá až žlutá	Šedá až žlutošedá	Žlutá	Neuplatňuje se
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Neuplatňuje se
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₂ ²	V	+	V	Neuplatňuje se
To ₄ ²	-	-	-	Neuplatňuje se

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

2. V tabulce Dodatečný test podle potřeby najdete další pozitivní nebo negativní reakce pro každou biochemickou látku.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 může po 18hodinové inkubaci vytvářet bledě růžové zbarvení ve VP, které se má považovat za negativní.

4. Slabě pozitivní reakce lze dosáhnout u *E. coli* ATCC 25922, jsou-li panely inkubovány déle než 18 hodin.

5. Může být zapotřebí 48hodinová inkubace.

N/A = Neuplatňuje se

POZNÁMKA: Organismy pro kontrolu kvality jsou zvoleny tak, aby zajišťovaly pozitivní/negativní reakce pro všechny identifikační substráty. Výsledkem je, že identifikace organismů se mohou lišit od identifikací uvedených v grafu kontroly kvality. Přijatelnost výkonu produktu má být stanovena porovnáním výsledků testů, a nikoliv identifikací.

Tabulka Dodatečný test

Organismus	Substrát	Očekávaný výsledek
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotidis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Identifikace vysušených gramnegativních organismů – efektivní kontrola kvality ID ¹					
Organismus pro kontrolu kvality	Číslo ATCC	Substrát klíčového ukazatele	Očekávaný výsledek	Výsledek nesplňující specifikace	Nestabilní substrát
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Ano
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Ano

1. Klíčové ukazatele kontroly kvality jsou uvedeny pro efektivní kontrolu kvality podle dokumentu CLSI M50-A.⁴ Před zavedením programu efektivní kontroly kvality se seznámte s dokumentem M50-A, kde jsou uvedeny podrobné informace, a požádejte kompetentní regulační orgány a inspekční skupiny o potvrzení akceptování.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Uváděné funkční charakteristiky vysušeného gramnegativního identifikačního panelu MicroScan byly stanoveny v multicentrické studii. Pomocí vysušeného negativního ID panelu typu 2 a konvenčních zkušebních metod byly testovány klinické izoláty a zásobní kmeny, které představují typ bakteriální populace, jenž se očekává v běžné klinické laboratoři. Úplný seznam organismů zahrnutých v databázi uvádí Mikrobiologická informační příručka, oddíl Vysušené (konvenční) negativní panely: gramnegativní aerobní bacily.

Procentuální shoda s referenční metodou

Počet testovaných	Počet správných identifikací	% správných identifikací
609	593	97,4

REPRODUKOVATELNOST

Reprodukovatelnost je stanovena testováním vícenásobných replikátů za odlišných podmínek (např. šarže panelů, dny, přístroje, uživatelé). Může se jednat o kontrolu kvality kmenů, klinických izolátů nebo obojího. Celková shoda byla ≥ 95 %.

PROHLÁŠENÍ O ZÁRUČE

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

OZNÁMENÍ UŽIVATELI

Závažné incidenty, ke kterým došlo v souvislosti s panely MicroScan, je nutné ohlásit společnosti Beckman Coulter a kompetentnímu orgánu členského státu, ve kterém se uživatel a/nebo pacient nacházejí.

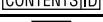
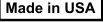
HISTORIE REVIZÍ

REVIZE	DATUM	POPIS
AA	Květen 2022	První vydání
AB	Prosinec 2022	Aktualizováno: Reprodukovatelnost

Klíč k symbolům

Následující symboly mohou být použity na štítcích produktů Beckman Coulter pro mikrobiologii.

Klíč k symbolům			
Symbol	Název symbolu	Popis normy	Standard
	Nepoužívejte opakovaně	Označuje zdravotnické zařízení, které je určeno pro jednorázové použití nebo pro použití u jednoho pacienta během jedné procedury.	ISO 15223-1, klauzule 5.4.2
	Datum spotřeby	Označuje datum, po jehož uplynutí se zdravotnické zařízení nemá používat.	ISO 15223-1, klauzule 5.1.4
	Kód dávky	Označuje kód dávky výrobce pro účely identifikace šarže nebo dávky.	ISO 15223-1, klauzule 5.1.5
	Katalogové číslo	Uvádí katalogové číslo výrobce, podle něhož lze zdravotnické zařízení identifikovat.	ISO 15223-1, klauzule 5.1.6
	Výrobce	Uvádí výrobce zdravotnického zařízení podle definice ve směrnicích EU 90/385/EHS, 93/42/EHS a 98/79/ES.	ISO 15223-1, klauzule 5.1.1
	Datum výroby	Označuje datum výroby zdravotnického zařízení.	ISO 15223-1, klauzule 5.1.3
	Oprávněný zástupce v Evropském společenství	Označuje oprávněného zástupce v Evropském společenství.	ISO 15223-1, klauzule 5.1.2

Klíč k symbolům			
Symbol	Název symbolu	Popis normy	Standard
	Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů	Označuje celkový počet testů IVD, které lze se zařízením IVD provést. (Obvykle je součástí reagenčních souprav.)	ISO 15223-1, klauzule 5.5.5
	Zdravotnické zařízení pro diagnostiku <i>in vitro</i>	Označuje zdravotnické zařízení, které je určeno k použití jako zdravotnické zařízení pro diagnostiku <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, klauzule 5.5.1
	Teplotní omezení	Označuje mezní teploty, jimž je možné zdravotnické zařízení bezpečně vystavit.	ISO 15223-1, klauzule 5.3.7
	Postupujte podle návodu k použití	Označuje, že uživatel musí postupovat podle návodu k použití.	ISO 15223-1, klauzule 5.4.3
	Značka CE	Označení shody CE	Neuplatňuje se
	Obsah	Neuplatňuje se	Neuplatňuje se
	Obsah (balení)	Antimikrobiální látka (zkratka)	Neuplatňuje se
	Obsah (balení)	Identifikační substrát (zkratka)	Neuplatňuje se
	Bezpečnostní list	Označuje bezpečnostní list.	Neuplatňuje se
	Made in USA	Neuplatňuje se	Neuplatňuje se
	Pouze pro export	Neuplatňuje se	Neuplatňuje se
	Rekonstituční objem	Neuplatňuje se	Neuplatňuje se
	Krehké, zacházejte opatrně	Označuje zdravotnické zařízení, které se může poškodit nebo zničit, pokud s ním není správně manipulováno.	ISO 15223-1, klauzule 5.3.1
	Touto stranou vzhůru	Označuje správnou vertikální polohu.	ISO 7000: 0623
	Informace pouze pro USA	Označuje informace, které jsou vyžadovány pouze pro produkty, které mají být prodávány v USA.	Neuplatňuje se
	Použití pouze na předpis	Uznáno úřadem FDA Spojených států jako alternativa k „Upozornění: Federální zákon omezuje prodej tohoto zařízení pouze na licencované lékaře nebo jejich objednávku.“	21CFR 801.109(b)(1)
	Biologická rizika	Označuje, že ve spojitosti se zdravotnickým prostředkem se mohou vyskytnout biologická rizika. Poznámka: Tento symbol nesmí být zaměňován za značku „biologické riziko“, která je určena k použití na pracovišti.	ISO 15223-1, klauzule 5.4.1
	Nebezpečí	Neuplatňuje se	Neuplatňuje se
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements. (ISO 15223-1: Zdravotnické prostředky – Značky pro štítky, označování a informace poskytované se zdravotnickými prostředky. Část 1: Obecné požadavky.)			

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

MicroScan

Príručka ID2 s postupmi pre gramnegatívne baktérie, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

URČENÉ POUŽITIE

Panel MicroScan Neg ID typu 2 je zdravotnícka pomôcka na *in vitro* diagnostiku určená na kvalitatívne stanovenie identifikácie (až po úroveň druhu) rýchlo rastúcich aeróbných a fakultatívne anaeróbných gramnegatívnych bacilov z izolovaných kolónií. Medzi metódy inkubácie a stanovenia výsledkov patrí plná automatizácia na prístrojoch WalkAway a neautomatizovaná inkubácia off-line s odčítaním na prístroji autoSCAN-4 alebo manuálnym odčítaním s možnosťou zadať výsledky do systému správy údajov LabPro.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

SÚHRN A PRINCÍP

Panely sa po zaočkovaní a rehydratácii štandardizovanou suspenziou organizmu inkubujú minimálne 16 hodín pri teplote 35 °C. Upravené konvenčné a chromogénne testy slúžia na identifikáciu fermentatívnych a nefermentatívnych gramnegatívnych bacilov. Identifikácia sa zakladá na detekcii zmien pH, využití substrátu a raste v prítomnosti antimikrobiálnych činidiel po 16 – 42 hodinách inkubácie pri teplote 35 °C.¹

ID panelu typu 2 pre gramnegatívne baktérie			
Substráty	Skr.	Substráty	Skr.
Glukóza	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sacharóza	SUC	Citrát	CIT
Sorbitol	SOR	Malonan	MAL
Rafinóza	RAF	o-Nitrofenyl-β-D-galaktopyranozid	ONPG
Ramnóza	RHA	Vínan	TAR
Arabinóza	ARA	Acetamid	ACE
Inozitol	INO	Cetrimid	CET
Adonitol	ADO	OF glukóza	OF/G
Melibióza	MEL	Báza OF	OF/B
Močovina	URE	Dekarboxylázová báza	DCB
Sírovodík	H ₂ S	Dusičnan	NIT
Indol	IND	Penicilín G 4 µg/ml ¹	P ₄
Lyzín	LYS	Kanamycín 4 µg/ml ¹	K ₄
Arginin	ARG	Kolistín 4 µg/ml ¹	Cl ₄
Ornitín	ORN	Nitrofurantoin 64 µg/ml ¹	Fd ₆₄
Tryptofán deamináza	TDA	Cefalotín 8 µg/ml ¹	Cf ₈
Eskulín	ESC	Tobramycín 4 µg/ml ¹	To ₄

1. Antimikrobiálne látky slúžiace na identifikáciu.

KLINICKÝ VÝZNAM

Výsledky identifikačného testu sa spolu s ostatným laboratórnymi výsledkami a klinickými ukazovateľmi používajú na spresnenie liečby symptomatických pacientov.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Len na diagnostické použitie *in vitro*.
2. Dodržiavajte aseptické postupy a zavedené preventívne opatrenia voči mikrobiologickým rizikám v rámci všetkých postupov so špeciálnym ohľadom na možnosť, že zaočkované panely obsahujú potenciálne patogénne organizmy.
3. Tento materiál obsahuje infekčné častice a mal by sa zlikvidovať príslušným spôsobom pre biologicky nebezpečný odpad.
4. Výsledky tohto testu by sa mali vždy interpretovať v spojení s anamnézou pacienta, klinickým stavom a inými nálezmi.
5. Len na jedno použitie. Pre všetky panely MicroScan a spotrebný materiál platí, že by sa nemali používať opakovane, pokiaľ nie je uvedené inak (napr. krycie tácky).
6. Tento výrobok obsahuje materiál(y) živočíšneho pôvodu z dehydratovaných mikrobiologických médií. V záujme ochrany pri manipulácii s týmto výrobkom dodržiavajte všeobecné bezpečnostné predpisy.

SKLADOVANIE

Suché gram-negatívne panely sa musia skladovať pri teplote 2 – 25 °C.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Dlhšie vystavenie skladovacím podmienkam odlišným od uvedených odporúčaní môže mať za následok hydrolýzu identifikačných substrátov. Nepoužívajte po dátume spotreby. Ak potrebujete pomoc, kontaktujte svojho zástupcu alebo distribútora spoločnosti Beckman Coulter.

ODBER A PRÍPRAVA VZORIEK

Vhodné vzorky by sa mali odoberať, prepravovať a ukladať na primárne izolačné médiá podľa postupov odporúčaných v príručke *Manual of Clinical Microbiology* (Príručka klinickej mikrobiológie).²

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

ID typu 2 pre gramnegatívne baktérie (B1017-27)

Príručka postupov a kontroly kvality

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ SA NEPOSKYTUJE

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

10 % Chlorid železitý, 30 ml (B1010-48A) alebo 250 ml (B1015-48)

0,5 % N,N-dimetyl-alfa-naftylamín, 30 ml (B1010-45A) alebo 250 ml (B1015-45)

40 % Hydroxid draselný, 30 ml (B1010-43A) alebo 250 ml (B1015-43)

0,8 % Kyselina sulfanilová, 30 ml (B1010-44A) alebo 250 ml (B1015-44)

Štandard turbidity McFarland 0,5

Pipetor 100 µl

Papier so štítkami s čiarovými kódmi (B1018-129)

Krycie tácky (B1010-56B)

Všeobecné laboratórne vybavenie

Kováčovo činidlo, 30 ml (B1010-41A) alebo 250 ml (B1015-41)

Manuálne panelové pracovné listy (slúžia na zaznamenanie manuálne odčítaných výsledkov)

Prehliadač mikroriedenia

Minerálny olej, 60 ml (B1010-40)

Minerálny olej, 250 ml (B1010-40A)

Oxidázové činidlo

Organizmy na kontrolu kvality (pozrite si časť Kontrola kvality v tejto príručke)

Formuláre správy o kontrole kvality

Súprava kvapkadla na činidlo (B1013-12A)

RENOK – Rehydrátor/inokulátor (B1018-14) alebo ekvivalent

Turbidimeter

Vortex

MATERIÁLY NA JEDNO POUŽITIE

0,85 % autoklávaný fyziologický roztok, 3 ml

Jednorazové sterilné pipetové špičky

Súprava inokulátorov-D (B1013-4)

Očkovacia voda, 3 ml (B1015-2)

Očkovacia voda s činidlom PLURONIC®, 25 ml (B1015-7)*

Očkovacie systémy Prompt® (B1026-10D)**

Tesniace pružky (B1010-51)

*Surfaktanty PLURONIC®. Registrovaná ochranná známka spoločnosti BASF Corporation, Parsippany, New Jersey, USA.

**3M, St. Paul, MN USA

POSTUP

Príprava panela

1. Vyberte z úložného priestoru panely, ktoré sa budú používať. Nepoužívajte ich, ak je porušená integrita obalu (netesný, prepichnutý alebo natrhnutý).
2. Prerežte vrečko a vyberte panel. Ak panely skladujete v chladničke, ihneď vyberte panel z fóliového vrečka.
3. **Panely by sa nemali používať, ak nastala ktorákoľvek z nasledujúcich podmienok:**
 - A. Vysušovací prostriedok nie je prítomný alebo je porušený.
 - B. Jamky panela sú bezfarebné (napr. DCB, rozlične antimikrobiálne látky).
4. Pred rehydratáciou nechajte panely vytemperovať na teplotu miestnosti. Panely možno ukladať na seba a vrchný prikryť čistou krycou táckou. Všetky otvorené panely by sa mali buď použiť v rovnaký deň alebo vyhodiť.

Príprava inokula

Inštitút CLSI odporúča pravidelne kontrolovať hustotu vášho inokula počítaním kolónií. Odporúčania týkajúce sa počítania kolónií nájdete v dokumente CLSI M07, 11. vyd. Očakávané výsledky pre *E. coli* ATCC 25922 by sa mali tesne blížiť konečným testovacím koncentráciám 5×10^5 CFU/ml.³ Používateľ by mal venovať veľkú pozornosť príprave inokula hlavne pri manuálnych metódach, ktoré závisia od techniky, ako je napríklad systém Prompt alebo príprava inokula bez pomoci fotometrického zariadenia.

1. Technika turbiditného štandardu – metóda primárneho očkovania

Na priame očkovanie všetkých aeróbných gram-negatívnych tyčinkovitých baktérií sa odporúča technika štandardu turbidity.

- A. Pomocou sterilnej aplikačnej tyčinky, očka alebo tampóna sa dotknite povrchu 4 – 5 veľkých alebo 5 – 10 malých, morfológicky podobných, dobre oddelených kolónií z 18 – 24-hodinovej neinhibičnej agarovej platničky.
- B. Emulzifikujte v 3 ml očkovacej vody (autoklávovaná deionizovaná voda).
- C. Dôkladne utiahnite a suspenziu vortexujte 2 – 3 sekundy.
- D. Konečná turbidita by mala zodpovedať McFarlandovmu štandardu zákalu 0,5. Ekvivalentnú turbiditu možno dosiahnuť pomocou turbidimetra MicroScan s rozsahom $0,08 \pm 0,02$.
- E. Napipetujte 0,1 ml (100 µl) štandardizovanej suspenzie do 25 ml očkovacej vody s činidlom PLURONIC. Dôkladne uzavrite. Premiešajte 8 – 10-násobným prevrátením.

2. Systém Prompt

Systém Prompt sa dá použiť na očkovanie gramnegatívnych bacilov. Správne používanie systému Prompt je opísané v dokumente Prompt Inoculation Procedural Manual (Príručka s postupmi očkovania k systému Prompt).

POZNÁMKA: Používajte opatrne. Nedostatočné očkovanie môže nastať pri organizmoch, ktoré nespĺňajú požiadavku na veľkosť. Nedostatočné očkovanie by mohlo spôsobiť nesprávnu citlivosť a identifikáciu výsledkov testov.

Oxidázový test

Pred očkovaním panelov vykonajte oxidázový test. Zaznamenajte výsledky do príslušného priestoru na pracovnom liste alebo tak, ako to vyžadujú prístroje. Oxidázové výsledky podporujú oddelenie taxónov a rýchle hlásenie nefermentujúcich baktérií (napr. komplex *Acinetobacter baumannii*). Pri systémoch WalkAway sa odporúča zadať oxidázové výsledky pred tlačou čiarových kódov. Niektoré nefermentujúce baktérie sa v závislosti od rastu môžu stále držať do 42 hodín. Odporúčané oxidázové činidlo je tetrametyl-p-fenyléndiamín dihydrochlorid.

Rehydratácia/očkovanie panela

Rehydratácia a očkovanie sa vykonávajú pomocou systému RENOK s očkovacími látkami Inoculators-D (B1013-4). Pri použití postupujte podľa dokumentu RENOK Operator's Manual (Návod na obsluhu systému RENOK). Ak sa používa alternatívny systém, vykonajte rehydratáciu pomocou $115 \mu\text{l} \pm 10 \mu\text{l}$ inokulačnej vody s obsahom PLURONIC. V jamke by mala byť konečná koncentrácia $3 - 7 \times 10^5$ CFU/ml. Aby sa zabezpečila životaschopnosť a čistota testovaného organizmu, mala by sa pripraviť miska s testom čistoty výsevom inokula na vhodnú agarovú misku a inkubáciou vo vhodných podmienkach. Ak sa na miske s testom čistoty nachádzajú dva alebo viac typov kolónií, opätovne izolujte kolónie a opakovane otestujte.

Biochemické prevrstvenia

1. Pomocou fľaštičky s kvapkadlom prekryte jamky GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN a DCB 3 kvapkami minerálneho oleja. Tieto jamky sú na paneli podčiarknuté.
2. Médiá v jamkách musia byť úplne prekryté minerálnym olejom, ale olej by nemal pretekať cez okraje jamiek.

POZNÁMKA: Systémy WalkAway (a systémy WalkAway s pridanou funkciou automatizovaného prekrytia olejom) automaticky pridávajú olej do príslušných jamiek.

Tesniaci prúžok

Len pri gramnegatívnych organizmoch pozitívnych na oxidázu umiestnite nad jamky CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B a DCB tesniaci prúžok. Štvrťpalcový lokalizačný otvor v páske by sa mal zarovnať nad jamkou DCB. Pri systémoch WalkAway sa namiesto tesniaceho prúžka používa viečko.

Inkubácia

1. Panely možno inkubovať v systéme WalkAway alebo inkubovať off-line podľa nasledujúcich krokov:
 - A. Aby sa zabezpečilo rovnomerné rozloženie tepla počas inkubácie, naskladajte na seba panely po 3 – 5 kusov.
 - B. Umiestnite čistú kryciu tácku na vrch každej skupiny panelov, aby ste predišli odparovaniu. Krycie tácky možno používať opakovane. Nedekontaminujte krycie tácky alkoholom. Možno ich očistiť mydlom a vodou. Riadne ich opláchnite a nechajte vyschnúť na vzduchu.
 - C. Inkubujte panely aspoň 16 hodín pri teplote 35 °C v inkubátore bez CO₂.

Odčítanie panelov

Panely možno odčítat manuálne a výsledky zaznamenať do manuálneho panelového pracovného listu alebo pomocou prístrojov MicroScan (systémy autoSCAN-4 a WalkAway). Pri odčítaní panelov pomocou prístrojov MicroScan postupujte podľa Návodu na obsluhu.

1. Po 16 – 20 hodinách inkubácie vyberte panely z inkubátora.
2. Utretím spodku panela utierkou nepúšťajúcou vlákna odstráňte všetku prítomnú kondenzáciu alebo nečistoty.
3. Odčítajte panely, len ak je kontrolná jamka priesačaná a rastová jamka je zakalená. Neodčítajte panely, ak je kontrolná jamka zakalená alebo ak v rastovej jamke nedošlo k rastu. Turbidita môže mať formu bieleho zákalu po celej jamke, bieleho disku v strede jamky alebo jemných granúl po celom objeme jamky. Neprimeraný alebo žiadny rast sa definuje ako mierne belavá farba v jamke alebo priesačné médium.
4. Ak sa výsledky odčítajú manuálne, zaznamenajte ich do príslušného pracovného listu.

5. Odčítanie identifikačných substrátov

- A. Odčítajte všetky identifikačné substráty na bielom pozadí okrem CET a antimikrobiálnych látok slúžiacich na identifikáciu (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), ktoré by sa mali odčítat na čiernom (nepriamo osvetlenom) pozadí.
- B. Nasledujúce substráty sa vždy odčítajú po 16 – 24 hodinách: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Ak je splnená ktorákoľvek z nasledujúcich podmienok:
 - a. GLU alebo SUC alebo SOR pozitívne alebo
 - b. ARG pozitívne a OF/G pozitívne alebo
 - c. ARG pozitívne a CET pozitívne alebo
 - d. LYS pozitívne alebo
 - e. ORN pozitívne alebo
 - f. OXI negatívne a OF/G pozitívne a Fd₆₄ pozitívne a MAL pozitívne.

Následne pridajte činidlá a odčítajte zostávajúce substráty po 16 – 24-hodinovej inkubácii. Ak nie sú splnené žiadne z vyššie uvedených podmienok, opätovne inkubujte panely ďalších 24 hodín a následne pridajte činidlá a odčítajte zostávajúce substráty.

- D. Ak sa po reinkubácii organizmus stále zdá byť nereaktívny, skontrolujte, či organizmus narástol v cukornatých médiách s fenolovou červenou (hlavne ak dochádza k nedostatočnému alebo žiadnemu rastu v rastovej kontrole na Muellerovom-Hintonovej médiu). Ak nedochádza k žiadnemu rastu na cukornatých médiách s fenolovou červenou, dá sa predpokladať náročný organizmus, ako napríklad niektorý z halofilných druhov rodu *Vibrio*. Malo by sa zopakovať Gramovo farbenie na potvrdenie, že ide o gram-negatívny organizmus.
 - a. Ak by vzniklo podozrenie na klinicky významné ochorenie spôsobené halofilným druhom rodu *Vibrio*, zopakujte testovanie emulzifikáciou niekoľkých kolónií do 3,0 ml sterilného 0,85 % fyziologického roztoku a vykonajte aj dodatočné testovanie vrátane rastu v soli, ako odporúča softvér. Konečná turbidita by mala zodpovedať štandardu turbidity McFarland 0,5. Zodpovedajúcu turbiditu možno dosiahnuť pomocou turbidimetra MicroScan s rozsahom 0,08 ± 0,02. Rehydratujte panel pomocou 25 ml nezaočkovanej očkovacej vody s činidlom PLURONIC pomocou systému RENOK. Pomocou sterilnej prenosovej pipety pridajte jednu kvapku (45 – 50 µl) fyziologickej suspenzie do každej identifikačnej jamky vrátane rastovej, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ a Fd₆₄ jamky. Dodržať treba všetky ďalšie kroky spracovania panela.
- E. Pred odčítaním pridajte činidlá nasledovným spôsobom:

- Pridajte 1 kvapku 40 % hydroxidu draselného (KOH) a 1 kvapku 5 % alfa-naftolu do jamky VP. Počkejte aspoň 20 minút, aby prebehla reakcia VP.
- Pridajte 1 kvapku 10 % chloridu železitého do jamky TDA. Farba sa zmení okamžite.
- Pridajte 3 kvapky Kováčovho činidla MicroScan do jamky IND. Farba sa zmení okamžite.

POZNÁMKA: Kovacsovo činidlo MicroScan je špeciálna zmes určená na použitie s prístrojmi MicroScan. Pri manuálnom odčítaní panelov stačí použiť len jednu kvapku.

- Pridajte 1 kvapku 0,8 % kyseliny sulfanilovej a následne 1 kvapku 0,5 % N,N-dimetyl-alfa-naftylamínu do jamky NIT. Pred odčítaním počkejte aspoň 5 minút, aby prebehla reakcia NIT.

F. Pomôcku k biochemickej interpretácii nájdete v časti VÝSLEDKY.

VÝSLEDKY

1. Biochemické interpretácie

Jamka	Reagencia	Pozitívny	Negatívny
GLU		Len výrazná žltá	Oranžová až červená
		Niektoré nefermentujúce baktérie môžu vytvárať zlaté sfarbenie, ktoré by sa malo považovať za negatívne.	
SUC		Žltá až žltá/oranžová	Oranžová až červená
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Purpurová až ružová	Žltá, oranžová alebo svetloružová
H ₂ S		Čierny precipitát alebo čierny disk	Bez sčernenia
IND	Pridajte 3 kvapky (alebo jednu kvapku, ak sa panel odčítava vizuálne) Kováčovho činidla MicroScan. Farba sa zmení okamžite.	Ružová až červená	Svetložltá až oranžová
		Druhy rodu <i>Providencia</i> môžu vytvárať svetloružový prstenec, ktorý by sa mal považovať za pozitívny.	
Porovnajte LYS, ARG a ORN s DCB. Aby boli tieto výsledky platné, musia sa jamky prekryť olejom. Fuchsiová sa považuje za pozitívnu pri porovnaní so sivou jamkou DCB. Sivá sa považuje za pozitívnu pri porovnaní so žltou jamkou DCB. Pri nefermentujúcich baktériách musí byť pozitívny test výrazne viac fuchsiový ako bazálna kontrola. Ak je bazálna kontrola fuchsiová, bazálne médium je zásadité a LYS, ARG a ORN by sa mali všetky zaznamenať ako negatívne. Tento efekt nastáva pri druhoch rodu <i>Achromobacter</i> a <i>Ochrobactrum anthropi</i> .			
LYS		Fuchsiová až sivá	Fermentujúce baktérie:
ARG			Žltý
			Nefermentujúce baktérie:
ORN		Fuchsiová	Bezfarebná až sivá
TDA	Pridajte 1 kvapku 10 % chloridu železitého. Farba sa zmení okamžite.	Akýkoľvek odtieň hnedej	Žltá až oranžová
ESC		Svetlohnedá až čierna	Béžová až bezfarebná
VP	Pridajte 1 kvapku 40 % KOH a 1 kvapku 5 % alfa-naftolu. Počkejte aspoň 20 minút, aby prebehla reakcia.	Červený	Bezfarebný
		Niektoré nefermentujúce baktérie môžu po 18-hodinovej inkubácii vytvoriť svetloružové zafarbenie, ktoré by sa malo považovať za negatívne.	

Jamka	Reagencia	Pozitívny	Negatívny
ONPG		Žltý	Bezfarebný
		Porovnajte ktorúkoľvek jamku s ONPG, ktorá vyzerá číra, s jamkou s cetrimidom. Ak sa ONPG v porovnaní s cetrimidovou jamkou javí žltý akéhokoľvek odtieňa, zaznamenajte ho ako pozitívny.	
CIT MAL		Modrá až modrozelená Akýkoľvek odtieň modrej sa považuje za pozitívny	Zelená až žltá
TAR ACE			
CET		Rast	Bez rastu
OF/G		Žltý	Ak je báza OF zelená: Zelená až modrá
		Žltá až zelená	Ak je báza OF modrá až modrozelená: Modrý
		Porovnajte jamku OF/G s kontrolou s bázou OF.	
NIT	Pridajte 1 kvapku 0,8 % kyseliny sulfanilovej a následne 1 kvapku 0,5 % N,N-dimetyl-alfa-naftylamínu. Počkajte aspoň 5 minút, aby prebehla reakcia.	Červený	Bezfarebná až bledoružová
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Rast (rezistentné)	Bez rastu (citlivé)
LOC	Len na rozoznávanie panelov systémov autoSCAN-4 a WalkAway.		

2. Princípy identifikačných reakcií

Fermentácia sacharidov (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Fermentáciou konkrétneho sacharidu vzniká kyselina a pokles pH sa zistí pomocou indikátora fenolová červeň.

Močovina (URE): Enzým ureáza štiepi močovinu za vzniku amoniaku. Výsledný nárast pH sa zistí pomocou indikátora fenolová červeň.

Sírovodík (H₂S): Plynný sírovodík vzniká z tiosíranu sodného a reaguje so železitými kationmi v médiu za vzniku čierneho precipitátu.

Indol (IND): Metabolizmom tryptofánu vzniká indol, ktorý sa zisťuje pridaním Kovacsovo činidla. Ak je prítomný indol, vznikne červené zafarbenie.

Lyzín, arginín, ornitín (LYS, ARG, ORN): Dekarboxyláciou týchto aminokyselín vznikajú zásadité amíny, ktoré sa zisťujú pomocou indikátora bromkrezolová purpurová.

Tryptofán deamináza (TDA): Baktérie schopné deaminácie tryptofánu produkujú kyselinu indolpyrohroznovú, ktorá reaguje s citrátom amónno-železitým v médiu po pridaní chloridu železitého za vzniku hnedého zafarbenia.

Hydrolyza eskulínu (ESC): Hydrolyza eskulínu sa zisťuje pomocou citrátu amónno-železitého v médiu, ktorý reaguje s produktmi hydrolyzy za vzniku čierneho precipitátu.

Vogesov-Proskauerov test (VP): Acetoín sa tvorí z pyruvátu sodného a jeho vznik signalizuje vznik červeného zafarbenia po pridaní 40 % hydroxidu draselného a 5 % alfa-naftolu.

Galaktozidáza (ONPG): β-galaktozidáza hydrolyzuje o-nitrofenyl-β-D-galaktopyranozid, z ktorého sa uvoľňuje žltlo sfarbený o-nitrofenol.

Citrát, malonan, acetamid, vínian (CIT, MAL, ACE, TAR): Použití týchto substrátov ako výlučného zdroja uhlíka pre metabolizmus sa zvyšuje pH, čo sa zistí pomocou indikátora brómtymolová modrá.

Oxidácia-fermentácia (OF/G): Oxidáciou glukózy vzniká kyselina a pokles pH sa zistí pomocou indikátora brómtymolová modrá. OF/G sa porovná s OF/B (báza), aby sa určilo, či sa vytvorila nejaká kyselina.

Dusičnan (NIT): Schopnosť organizmu redukovať dusičnany na dusitany sa zisťuje pridaním N,N-dimetyl-alfa-naftylamínu a kyseliny sulfanilovej, čím vznikne v prítomnosti dusitanu červené zafarbenie.

Cetrimid (CET): Tolerancia na cetrimid sa prejavuje rastom na Muellеровom-Hintonovej médiu s prídavkom cetrimidu.

Penicilín, kanamycín, kolistín, cefalotín, nitrofurantoin, tobramycín (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Rezistencia voči špecifickým koncentráciám týchto antimikrobiálnych činidiel sa prejavuje rastom.

3. Identifikácia organizmu

Program Biotype Lookup Program v informačnom manažérovi LabPro a na webovej lokalite spoločnosti Beckman Coulter slúži na identifikáciu neznámych testovaných organizmov. Program obsahuje identifikáciu organizmu a relatívne pravdepodobnosti v poradí od najvyššej až po celkový súčet 99,9 %.

Ak by bolo výsledkom číslo biotypu, ktoré predstavuje „Very Rare Biotype“ (Veľmi zriedkavý biotyp), použite softvér LabPro (Utilities (Vybavenie)>System (Systém)>Biotype Lookup (Vyhľadať biotyp)), program Biotype Lookup Program na webovej lokalite spoločnosti Beckman Coulter alebo sa poraďte so svojím zástupcom alebo distribútorom spoločnosti Beckman Coulter.

OBMEDZENIE POUŽITIA SÚPRAVY

1. *Haemophilus* a iné náročné gramnegatívne baktérie neporastú v Muellеровom-Hintonovej médiu bez prídavku rastových doplnkov.
2. Postupy opísané v tomto dokumente sú vhodné len pre fakultatívne anaeróbne a aeróbne gramnegatívne bacily.
3. Pri získaní identifikácie s nízkou pravdepodobnosťou (< 85 %) môžu byť na stanovenie konečnej identifikácie potrebné ďalšie testy (použite mikrobiologickú príručku MicroScan alebo program Biotype Lookup Program).
4. Interpretácia výsledkov testu vyžaduje vyškolených klinických pracovníkov, ktorí by mali pred prijatím identifikácie organizmu využívať úsudok, znalosti a ďalšie potvrdzujúce testy podľa potreby.
5. Čísla biotypov by sa nemali používať na fenotypovú identifikáciu kmeňov izolovaných z rozličných vzoriek od rovnakého pacienta.
6. Verejné zdravotnícke inštitúcie sa musia upozorniť na všetky izoláty, ktoré sa predbežne identifikovali ako *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* alebo *F. tularensis*. Potvrdenie izolátov týchto baktérií môže vyžadovať špecializované testovanie dostupné len v referenčných laboratóriách alebo laboratóriách verejných zdravotníckych inštitúcií.

KONTROLA KVALITY

Prijateľnosť identifikačných médií by sa mala kontrolovať testovaním organizmov so známymi reakciami. Výsledky pre kontrolné organizmy odporúčané organizáciou American Type Culture Collection (ATCC) sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Modrá, modrozelená, zelená	Modrá, modrozelená	Modrá, modrozelená, zelená	Modrá, modrozelená, zelená
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Sivá až žltá	Sivá až žltosivá	Žltý	nevzťahuje sa
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	nevzťahuje sa
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₂ ²	V	+	V	nevzťahuje sa
To ₄ ²	-	-	-	nevzťahuje sa

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

2. V tabuľke ďalších testov nájdete podľa potreby ďalšie pozitívne alebo negatívne reakcie pre jednotlivé biologické chemické látky.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 môže vytvárať svetloružové zafarbenie vo VP po 18 hodinách inkubácie, čo by sa malo interpretovať ako negatívne.

4. Slabú pozitívnu reakciu možno dosiahnuť s *E. coli* ATCC 25922, ak sa panely inkubujú dlhšie ako 18 hodín.

5. Môže vyžadovať 48 hodín inkubácie.

N/A = Nevzťahuje sa

POZNÁMKA: Organizmy na kontrolu kvality sú vybrané tak, aby dávali pozitívne/negatívne reakcie so všetkými identifikačnými substrátmi. Preto sa identifikácia organizmov môže líšiť od tej, ktorá je uvedená v tabuľke kontroly kvality. Prijateľná funkčnosť výrobku by sa mala stanoviť porovnaním výsledkov testov, nie identifikáciou.

Tabuľka ďalších testov

Organizmus	Substrát	Očakávaný výsledok
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotidis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

*American Type Culture Collection, Manassas, Virgínia, USA

Suchá identifikácia gramnegatívnych baktérií – modernizovaná kontrola kvality ID ¹					
Organizmus na kontrolu kvality	Kód ATCC	Kľúčový indikačný substrát	Očakávaný výsledok	Výsledok mimo špecifikácie	Nestabilný substrát
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Áno
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Áno

1. Uvádzajú sa kľúčové ukazovatele kontroly kvality pre modernizovanú kontrolu kvality podľa dokumentu CLSI M50-A.⁴ Pred zavedením modernizovaného programu kontroly kvality si vyhľadajte v dokumente M50-A podrobnosti a overte si akceptovateľnosť u príslušných regulačných orgánov a kontrolných skupín.

FUNKČNÉ CHARAKTERISTIKY

Vyhlasenia o funkčnosti suchého panela MicroScan na identifikáciu gram-negatívnych baktérií sú založené na multicentrickej štúdii. Klinické izoláty a zbierkové kmene boli testované pomocou suchého panela na negatívnu identifikáciu typu 2 a konvenčnými skúmovkovými metodológiami tak, aby zodpovedali typu bakteriálnej populácie, ktoré sa očakáva v bežnom klinickom laboratóriu. V časti Suché (konvenčné) negatívne panely: gram-negatívne aeróbne tyčinkovité baktérie v príručke Microbiology Information Manual (Mikrobiologická informačná príručka) nájdete úplný zoznam organizmov zahrnutých v databáze.

Percentuálna zhoda s referenčnou metódou

Počet testovaných	Počet správnych identifikácií	Percento správnych identifikácií
609	593	97,4

REPRODUKOVATEĽNOSŤ

Reprodukovateľnosť sa určí testovaním viacerých replikátov v rôznych podmienkach (napr. šarže panelov, počet dní, prístroje, používatelia). Môže to zahŕňať kmene na kontrolu kvality, klinické izoláty alebo obe. Celková zhoda bola $\geq 95\%$.

VYHLÁSENIE O ZÁRUKU

Systém je opísaný a podlieha záručným ustanoveniam vo vašej zmluve k systému alebo jeho čidlám. Zákazník zodpovedá za bežné postupy preventívnej údržby. Opravy spôsobené nedodržaním týchto postupov údržby v určených časových intervaloch prebiehajú podľa zváženia spoločnosti Beckman Coulter a na náklady zákazníka.

OZNÁMENIE PRE POUŽÍVATEĽA

Každá závažná nehoda, ktorá sa vyskytla v súvislosti s panelmi MicroScan, by sa mala nahlásiť spoločnosti Beckman Coulter a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom sídli používateľ a/alebo pacient.

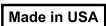
HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA	DÁTUM	OPIS
AA	Máj 2022	Prvotné vydanie
AB	December 2022	Aktualizované: Reprodukovateľnosť

Popis symbolov

Nasledujúce symboly sa môžu používať na označovanie produktov Beckman Coulter z oblasti mikrobiológie.

Popis symbolov			
Symbol	Názov symbolu	Opis štandardu	Štandard
	Nepoužívajte opakovane	Označuje zdravotnícku pomôcku určenú len na jedno použitie alebo na použitie u jedného pacienta počas jedného zákroku.	ISO 15223-1, bod 5.4.2
	Dátum spotreby	Označuje dátum, po ktorom sa už zdravotnícka pomôcka nemá používať.	ISO 15223-1, bod 5.1.4
	Kód dávky	Označuje výrobcov kód dávky, pomocou ktorého možno identifikovať dávku alebo šaržu.	ISO 15223-1, bod 5.1.5
	Katalógové číslo	Označuje katalógové číslo výrobcu, aby bolo možné identifikovať zdravotnícku pomôcku.	ISO 15223-1, bod 5.1.6
	Výrobca	Označuje výrobcu zdravotníckej pomôcky, ako je definované v smerniciach EÚ 90/385/EHP, 93/42/EHP a 98/79/ES.	ISO 15223-1, bod 5.1.1
	Dátum výroby	Označuje dátum, keď bola zdravotnícka pomôcka vyrobená.	ISO 15223-1, bod 5.1.3

Popis symbolov			
Symbol	Názov symbolu	Opis štandardu	Štandard
	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve	Označuje autorizovaného zástupcu v Európskom spoločenstve.	ISO 15223-1, bod 5.1.2
	Obsah vystačí na <n> testov	Označuje celkový počet IVD testov, ktoré možno vykonať s použitím IVD pomôcky. (Obvykle je uvedené na súpravách činidiel.)	ISO 15223-1, bod 5.5.5
	Zdravotnícka pomôcka na <i>in vitro</i> diagnostiku	Označuje zdravotnícku pomôcku určenú na používanie ako diagnostickú medicínsku pomôcku <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, bod 5.5.1
	Teplotné obmedzenie	Označuje teplotné limity, ktorým môže byť zdravotnícka pomôcka bezpečne vystavená.	ISO 15223-1, bod 5.3.7
	Prečítajte si návod na použitie	Označuje, že je potrebné, aby si používateľ prečítal návod na použitie.	ISO 15223-1, bod 5.4.3
	Označenie CE	Európske označenie súladu s predpismi	nevzťahuje sa
	Obsah	nevzťahuje sa	nevzťahuje sa
	Obsah (balenia)	Antimikrobiálna látka (skrátka)	nevzťahuje sa
	Obsah (balenia)	Identifikačný substrát (skrátka)	nevzťahuje sa
	Bezpečnostný list	Označuje kartu bezpečnostných údajov.	nevzťahuje sa
	Vyrobené v USA	nevzťahuje sa	nevzťahuje sa
	Len na profesionálne použitie	nevzťahuje sa	nevzťahuje sa
	Rekonštitučný objem	nevzťahuje sa	nevzťahuje sa
	Krehké, narábajte opatrne	Označuje zdravotnícku pomôcku, ktorá sa môže pokaziť alebo poškodiť, ak sa s ňou nemanipuluje opatrne.	ISO 15223-1, bod 5.3.1
	Týmto smerom nahor	Označuje správnu polohu smerom nahor	ISO 7000: 0623
	Informácie len pre USA	Označuje informácie, ktoré sa vyžadujú len pri výrobkoch určených na predaj v USA.	nevzťahuje sa
	Len na predpis	Uznané americkým úradom FDA ako alternatíva k textu „Upozornenie: Podľa federálnych zákonov sa toto zariadenie smie predávať len oprávneným lekárom alebo na pokyn oprávneného lekára“	21CFR 801.109(b)(1)
	Biologické riziká	Označuje zdravotnícku pomôcku, s ktorou sú spojené potenciálne biologické riziká. Poznámka: Tento symbol sa nesmie zamieňať s označením „biologické riziko“ určeným na použitie na pracovisku.	ISO 15223-1, bod 5.4.1
	Nebezpečenstvo	nevzťahuje sa	nevzťahuje sa
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: Zdravotnícke pomôcky. Značky používané na štítkoch zdravotníckych pomôcok, označovanie a poskytovanie informácií. Časť 1: Všeobecné požiadavky).			

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

MicroScan

그람 음성 ID2 절차 설명서, LabPro ≥ V5.0

[REF] B1017-27

사용목적

MicroScan 음성 ID 패널 타입 2는 분리된 집락에서 빠르게 증식하는 호기성 및 조건부 혐기성 그람 음성 간균의 종 레벨 동정에 대한 정성적 측정을 위해 고안된 ~~체/외~~ 진단 의료 기기입니다. 배양 및 결과 판별 방법에는 WalkAway 장비의 완전 자동화 방법 또는 autoSCAN-4 장비 판독이나 LabPro 데이터 관리 시스템에 결과를 입력할 수 있는 옵션이 제공되는 수동 판독을 사용하는 비자동 오프라인 배양이 포함됩니다.

대상 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

요약 및 원리

패널이 표준 균 현탁액을 사용해 접종 및 재수화된 후, 35°C에서 최소 16시간 동안 배양됩니다. 변형된 기존 검사 및 발색 검사는 발효 및 비발효 그람 음성 간균의 동정에 사용됩니다. 동정은 35°C에서 16~42시간 배양 후, pH 변화의 검출, 기질 이용, 항균제 존재 하의 증식을 기반으로 합니다.¹

음성 ID 패널 타입 2			
기질	약어	기질	약어
글루코스	GLU	포게스-프로스카우어	VP
수크로오스	SUC	시트르산염	CIT
소르비톨	SOR	말론산	MAL
라피노스	RAF	o-니트로페닐-β-D-갈락토피라노시드	ONPG
람노스	RHA	타르타르산염	TAR
아라비노스	ARA	아세트아마이드	ACE
이노시톨	INO	세트리모늄	CET
아도니톨	ADO	OF 포도당	OF/G
멜리바이오스	MEL	OF 염기	OF/B
요소	URE	탈탄산효소 염기	DCB
황화수소	H ₂ S	질산염	NIT
인돌	IND	페니실린 G 4μg/mL ¹	P ₄
라이신	LYS	카나마이신 4μg/mL ¹	K ₄
아르기닌	ARG	콜리스틴 4μg/mL ¹	Cl ₄
오르니틴	ORN	니트로푸란토인 64μg/mL ¹	Fd ₆₄
트리토판 탈아미노효소	TDA	세팔로틴 8μg/mL ¹	Cf ₈
에스쿨린	ESC	토브라마이신 4μg/mL ¹	To ₄

1. 동정에 사용되는 항균제.

임상 관련성

동정 검사 결과는 다른 실험실 결과 및 임상 지표와 함께 사용되어 증상을 보이는 환자를 위한 요법을 개선하는 데 도움이 됩니다.

경고 및 주의 사항

1. ~~체/외~~ 진단 전용.
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 유해 폐기물에 적합한 방법으로 폐기되어야 합니다.
4. 본 검사의 결과는 환자의 병력, 임상적 양상 및 다른 발견 사항들과 함께 해석되어야 합니다.
5. 일회용. 모든 MicroScan 패널 및 소모품은 별도로 명시되어 있지 않는 한 재사용해서는 안 됩니다(예: 커버 트레이).
6. 이 제품에는 미생물 건조배지의 동물 기원 물질이 함유되어 있습니다. 제품 취급 시 보호를 위한 일반 안전 지침을 따르십시오.

보관

건조 그람 음성 패널은 2~25°C에서 보관해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음



안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

성능 저하 증거

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

표본 수집 및 준비

Manual of Clinical Microbiology(임상 미생물학 설명서)에서 권장하는 절차에 따라 적합한 표본을 채취하고 운반하여 일차 분리 배지에 놓아야 합니다.²

제공되는 품목

음성 ID 타입 2(B1017-27)

검사 절차 및 정도관리 설명서

필요하지만 제공되지 않는 품목

5 % 알파 나프톨, 30mL(B1010-42A)

10 % 염화제이철, 30mL(B1010-48A) 또는 250mL(B1015-48)

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

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

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

0.5 McFarland Turbidity Standard(McFarland 혼탁도 표준)

100μL 피펫터

바코드 라벨 용지(B1018-129)

커버 트레이(B1010-56B)

일반 검사실 장비

Kovac 시약, 30mL(B1010-41A) 또는 250mL(B1015-41)

수동 패널 워크시트(수동 판독 결과 기록에 사용)

미량희석 뷰어

미네랄 오일, 60mL(B1010-40)

미네랄 오일, 250mL(B1010-40A)

산화효소 시약

정도관리균(이 설명서의 QC 섹션 참조)

정도관리 보고서 양식

시약 점적 키트(B1013-12A)

RENOK - 재수화기/접종기(B1018-14) 또는 동급 장비

탁도계

교반

일회용 재료

0.85 % 가압멸균 식염수, 3mL

일회용 멸균 피펫 팁

Inoculator-D 세트(B1013-4)

접종물 희석액, 3mL(B1015-2)

접종물 희석액(PLURONIC 함유)[®], 25mL(B1015-7)^{*}

Prompt[®] 접종 시스템(B1026-10D)^{**}

밀봉 스트립(B1010-51)

WalkAway 트레이 리드(B1018-18)

^{*}PLURONIC[®] 계면활성제, BASF Corporation(Parsippany, NJ USA)의 등록 상표.

^{**}3M, St. Paul, MN USA

절차

패널 준비

1. 사용할 패널을 보관함에서 꺼내십시오. 포장에 손상이 있는 경우(개봉되어 있거나 구멍이 났거나 찢어짐) 사용하지 마십시오.
2. 파우치를 잘라 개봉하여 패널을 꺼내십시오. 냉장고에 보관한 경우 호일 파우치에서 패널을 즉시 꺼내십시오.
3. 다음과 같은 경우 패널을 사용해서는 안 됩니다.
 - A. 건조제가 없거나 손상됨.
 - B. 패널 웰의 변색(예: DCB, 여러 항균제).
4. 재수화하기 전에 패널의 온도를 실온과 동일하게 하십시오. 깨끗한 커버 트레이를 위에 놓고 패널을 쌓을 수 있습니다. 개봉한 패널은 모두 당일 사용해야 하며 그렇지 않을 경우 폐기해야 합니다.

접종물 준비

CLSI는 집락 수 계산을 실시하여 접종물 밀도를 정기적으로 점검할 것을 권장합니다. 집락 수 권장 사항은 CLSI 문서 M07(11차 개정판)을 참조하십시오. *E. coli* ATCC 25922의 예상 결과는 최종 검사 농도에 대해 대략적으로 5×10^5 CFU/mL여야 합니다.³ 사용자는 특히 Prompt 시스템과 같은 방법에 의존하는 수동적 기법의 경우 또는 광도측정 기기를 사용하지 않고 조정된 접종물의 경우 접종물 준비에 주의해야 합니다.

1. 혼탁도 표준 기법 - 기본 접종법

혼탁도 표준 기법은 모든 호기성 그람 음성 간균의 직접 접종에 권장됩니다.

- A. 멸균 어플리케이션 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. 3mL의 Inoculum Water(가압 멸균 탈이온수)에 유화시킵니다.
- C. 캡을 단단히 닫고 현탁액을 2~3초 동안 휘젓습니다.
- D. 최종 혼탁도는 0.5 McFarland Turbidity Standard(McFarland 혼탁도 표준)의 최종 혼탁도와 동일해야 합니다. 동일한 혼탁도는 MicroScan 탁도계를 사용하여 0.08 ± 0.02 범위로 달성할 수 있습니다.
- E. 0.1mL(100 μ L)의 표준화된 현탁액을 피펫을 사용해 25mL의 PLURONIC 첨가 Inoculum Water에 첨가합니다. 캡을 단단히 닫습니다. 8~10회 뒤집어 혼합합니다.

2. Prompt 시스템

Prompt 시스템은 그람 음성 간균의 접종에 사용될 수도 있습니다. Prompt 시스템의 적절한 사용법은 Prompt 접종 절차 설명서(Prompt Inoculation Procedural Manual)를 참조하십시오.

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

산화효소 검사

패널 접종 전에 산화효소 검사를 수행하십시오. 결과를 워크시트의 해당 기재란에 기록하거나 장비에서 요청되는 대로 기재하십시오. 산화효소 결과는 분류군의 분리 및 비발효균(예: *Acinetobacter baumannii* 복합체)의 조기 보고를 뒷받침합니다. WalkAway 시스템의 경우, 바코드를 인쇄하기 전에 산화효소 결과를 입력할 것을 권장합니다. 일부 비발효균은 증식에 따라 42시간까지 보류될 수 있습니다. 권장 산화효소 시약은 테트라메틸-p-페닐렌-디아민-디하이드로클로라이드입니다.

패널 재수화/접종

재수화 및 접종은 RENOK 시스템 Inoculators-D(B1013-4)를 사용하여 수행됩니다. 사용법은 RENOK Operator's Manual(RENOK 사용 설명서)을 참조하십시오. 대체 시스템을 사용할 경우, 115 μ L $\pm$ 10 μ L의 PLURONIC 첨가 접종물로 재수화하십시오. 최종 웰 농도는 $3 \sim 7 \times 10^5$ CFU/mL여야 합니다. 검사균의 생존력과 순도를 유지하기 위해서 접종물을 적절한 한천 플레이트에 퍼 바르고 적절한 조건에서 배양시켜 순도 플레이트를 준비해야 합니다. 순도 플레이트에 두 개 이상의 집락 유형이 존재하는 경우 집락을 재분리하고 재검사하십시오.

생화학적 오버레이

1. 점적 병을 사용하여 3방울의 미네랄 오일을 떨어뜨려 GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN 및 DCB 웰을 포개어 놓습니다. 이 웰의 패널에는 밀줄이 있습니다.
2. 웰의 배지를 미네랄 오일로 완전히 덮어야 하지만, 미네랄 오일이 웰에서 넘쳐서는 안 됩니다.

참고: WalkAway 시스템(및 자동 오일 오버레이 기능으로 업그레이드된 WalkAway 시스템)은 자동으로 적절한 웰에 오일을 첨가합니다.

밀봉 스트립

산화효소 양성 그람 음성 균의 경우, 밀봉 스트립을 CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B, 및 DCB 웰에 놓으십시오. 테이프의 1/4인치 로케이터 구멍이 DCB 웰 위에 위치해야 합니다. WalkAway 시스템의 경우, 밀봉 스트립 대신에 뚜껑이 사용됩니다.

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 최소 16시간 동안 35°C에서 비CO₂ 배양기에서 배양합니다.

패널 판독

패널은 수동으로 판독할 수 있고 결과를 수동 패널 워크시트 또는 MicroScan 장비(autoSCAN-4 및 WalkAway 시스템)에 기록할 수 있습니다. MicroScan 장비를 사용한 패널 판독은 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. 컨트롤 웰이 투명하고 증식 웰이 혼탁한 경우에만 패널을 판독하십시오. 컨트롤 웰이 혼탁한 경우 또는 증식 웰에서 증식이 관찰되지 않을 경우 패널을 판독하지 마십시오. 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 불충분하거나 없으면 웰 전체에서 얇은 흰색이 보이거나 액체 배지가 투명합니다.
4. 결과가 수동으로 판독된 경우, 결과를 적절한 워크시트에 기록하십시오.

5. 동정 기질 판독

- A. CET와 동정에 사용되어 검은색(간접 조명) 배경에서 판독해야 하는 항균제(Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄)를 제외하고 모든 동정 기질을 흰색 배경에서 판독하십시오.
- B. 다음 기질은 항상 16~24시간에 판독합니다: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. 다음 중 하나에 해당하는 경우:
 - a. GLU 또는 SUC 또는 SOR 양성 또는
 - b. ARG 양성 및 OF/G 양성 또는
 - c. ARG 양성 및 CET 양성, 또는
 - d. LYS 양성 또는
 - e. ORN 양성
 - f. OXI 음성 및 OF/G 양성 및 Fd₆₄ 양성 및 MAL 양성,

그런 다음 시약을 첨가하고 나머지 기질을 16~24시간 배양 후 판독합니다. 위의 조건 중 하나도 해당되지 않으면 시약을 첨가하고 나머지 기질을 판독하기 전에 추가 24시간 동안 패널을 재배양하십시오.

- D. 재배양 후 균이 계속 비반응성인 경우, 균이 페놀 적색 탄수화물에서 증식했는지 확인하십시오(특히 Mueller-Hinton 증식 컨트롤에서 부실한 증식이 일어나거나 증식이 전혀 일어나지 않을 경우). 페놀 적색 탄수화물에서 증식이 일어나지 않은 경우, 호염성 *Vibrio* 종과 같은 배양이 까다로운 균을 의심해 봐야 합니다. 그람 염색을 반복하여 그람 음성인지 확인해야 합니다.
 - a. 호염성 *Vibrio* 종으로 인해 임상적으로 현저하게 감소할 경우, 0.85 % 멸균 식염수 3.0mL의 각 집락을 유향하여 재검사하고 또한 소프트웨어가 권장하는 바에 따라 소금에서 증식을 포함한 추가적 검사를 수행하십시오. 최종 혼탁도는 0.5 McFarland Turbidity Standard(McFarland 혼탁도 표준)의 최종 혼탁도와 동일해야 합니다. 동일한 혼탁도는 MicroScan 탁도계를 사용하여 0.08 ± 0.02 범위로 달성할 수 있습니다. RENOK을 사용하여 25mL의 비집중된 Inoculum Water with PLURONIC으로 패널을 재수화하십시오. 멸균 전달 피펫을 사용하여 식염수 현탁액 1방울(45~50μL)을 증식 웰 Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ 및 Fd₆₄ 웰을 포함해 각 동정 웰에 첨가합니다. 기타 모든 패널 처리 단계를 따라야 합니다.
- E. 판독 전에 시약을 다음과 같이 첨가합니다.
 - a. 40 % 수산화칼륨(KOH) 1방울과 5 % 알파 나프톨 1방울을 VP 웰에 첨가합니다. VP 반응이 일어날 때까지 최소 20분 동안 기다립니다.
 - b. 10 % 염화제이철 1방울을 TDA 웰에 첨가합니다. 색깔이 즉시 나타납니다.
 - c. MicroScan Kovac 시약 3방울을 IND 웰에 첨가합니다. 색깔이 즉시 나타납니다.
참고: MicroScan Kovac 시약은 MicroScan 장비에 사용하도록 고안된 특수한 시약입니다. 1방울만 있으면 패널을 수동으로 판독할 수 있습니다.
 - d. 0.8 % 설파닐산 1방울과 0.5 % N, N-디메틸-알파-나프틸아민 1방울을 NIT 웰에 첨가합니다. 판독 전에 NIT 반응이 일어날 때까지 최소 5분 동안 기다리십시오.
- F. 생화학적 판정에 대한 도움말은 결과 섹션을 참조하십시오.

결과

1. 생화학적 판정

웰	시약	양성	음성
GLU		진한 노란색만	주황색 - 빨간색
		일부 비발효균은 황금색을 나타낼 수 있으며, 이것은 음성으로 간주되어야 합니다.	
SUC		노란색 - 노란색/주황색	주황색 - 빨간색
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		자홍색 - 분홍색	노란색, 주황색 또는 연분홍색
H ₂ S		검은색 침전물 또는 검은 색 알갱이	흑화되지 않음
IND	MicroScan Kovac 시약 3방울(패널이 육안으로 판독될 경우 1방울)을 첨가합니다. 색갈이 즉시 나타납니다.	분홍색 - 빨간색	연한 노란색 - 주황색
		Providencia 종은 연한 분홍색 고리를 생성할 수 있으며, 이것은 양성으로 간주되어야 합니다.	
LYS, ARG, ORN을 DCB와 비교하십시오. 결과가 유효하려면 이 웰에 오일을 첨가해야 합니다. 회색 DCB 웰과 비교할 때 보라색은 양성으로 간주됩니다. 노란색 DCB 웰과 비교할 때 회색은 양성으로 간주됩니다. 비발효균의 경우, 양성 검사는 기본 컨트롤보다 훨씬 더 보라색이어야 합니다. 기본 컨트롤이 보라색일 경우, 기본 배지는 알칼리화되었으며 이 LYS, ARG, 및 ORN을 모두 음성으로 기록해야 합니다. Achromobacter 종과 Ochrobactrum anthropi가 이러한 경향이 있습니다.			
LYS		보라색 - 회색	노란색
ARG			
ORN		보라색	무색 - 회색
TDA	10 % 염화제이철 1방울을 첨가하십시오. 색갈이 즉시 나타납니다.	갈색이 조금이라도 보임	노란색 - 주황색
ESC		연한 갈색 - 검은색	베이지색 - 무색
VP	40 % KOH 1방울과 5 % 알파 나프톨 1방울을 첨가합니다. 반응이 일어날 때까지 최소 20분 동안 기다립니다.	빨간색	무색
		일부 비발효균은 18시간 배양 후 연분홍색을 나타낼 수 있으며, 이것은 음성으로 간주되어야 합니다.	
ONPG		노란색	무색
		투명해 보이는 모든 ONPG 웰을 세트리미드 웰과 비교하십시오. 세트리미드 웰과 비교했을 때 ONPG가 노란색을 조금이라도 보이면 양성으로 기록하십시오.	
CIT		파란색 - 청록색	녹색 - 노란색
MAL		파란색이 조금이라도 보이면 양성으로 간주됩니다.	
TAR			
ACE			
CET		중식	비중식
OF/G		노란색	OF 기본이 녹색일 경우: 녹색 - 파란색
		노란색 - 녹색	OF 기본이 파란색 - 청록색일 경우: 파란색
		OF/G 웰을 OF 기본 컨트롤과 비교하십시오.	
NIT	0.8 % 설파닐산 1방울과 0.5 % N, N-디메틸-알파-나프틸아민 1방울을 첨가합니다. 반응이 일어날 때까지 최소 5분 동안 기다립니다.	빨간색	무색 - 연분홍색

웹	시약	양성	음성
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		중식(내성 있음)	비중식(감수성 있음)
LOC	autoSCAN-4 및 WalkAway 시스템 패널 인식에만 해당.		

2. 동정 반응 원리

탄수화물 발효(GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): 특정 탄수화물이 발효되면 산이 형성되고 페놀 적색 지시약에 의해서 pH 감소가 검출됩니다.

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

황화수소(H₂S): 황화수소 가스는 치오황산나트륨에서 생성되며 배지에서 철 이온과 반응하여 검은색 침전물을 생성합니다.

인돌(IND): 트립토판의 대사는 인돌을 형성시키며, 이것은 Kovac 시약을 추가해 검출됩니다. 인돌이 있을 경우, 빨간색이 나타납니다.

리신, 아르기닌, 오르니틴(LYS, ARG, ORN): 이러한 아미노산의 탈카복시화는 브롬크레솔 보라색 지시약에 의해서 검출되는 염기성 아민을 형성시킵니다.

트립토판 탈아미노효소(TDA): 트립토판을 탈아미노화할 수 있는 세균은 인돌피루브산을 생성합니다. 인돌피루브산은 염화제2철 추가 후 배지에서 구연산철 암모늄과 반응해 갈색을 생성합니다.

에스쿨린 가수분해(ESC): 에스쿨린의 가수분해는 배지의 구연산철 암모늄에 의해서 검출되며, 구연산철 암모늄은 가수분해물과 반응해 검은색 침전물을 형성합니다.

포게스-프로스카우어(VP): 아세토인이 피루브산 나트륨에서 생성되며 40% 수산화칼륨과 5% 알파 나프톨을 추가한 후 빨간색이 형성되어 지시됩니다.

갈락토시다아제(ONPG): β-갈락토시다아제는 오르토니트로페닐-β-D-갈락토피라노시드를 가수분해하며, 이것은 노란색의 오르토-니트로페놀을 방출합니다.

구연산염, 말론산염, 아세트아미드, 주석산염(CIT, MAL, ACE, TAR): 이러한 기질들을 대사를 위한 유일한 탄소원으로 사용하면 pH가 상승합니다. 이것은 브롬티몰 청색 지시약에 의해서 검출됩니다.

산화-발효(OF/G): 글루코오스가 산화되면 산이 형성되고 브롬티몰 청색 지시약에 의해서 pH 감소가 검출됩니다. 어떤 산이 생성되었는지 판단하기 위해 OF/G는 OF/B(기본)와 비교됩니다.

질산염(NIT): 균이 질산염을 아질산염으로 환원시키는 능력은 아질산염이 있을 때 빨간색을 생성하는 설파닐산 및 N,N-디메틸-알파-나프틸아민을 첨가할 때 검출됩니다.

세트리미드(CET): 세트리미드에 대한 내성은 세트리미드를 보충한 Mueller-Hinton 액체 배지 내의 성장에 의해서 나타납니다.

페니실린, 카나마이신, 콜리스틴, 세팔로틴, 니트로푸란토인, 토브라마이신(P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): 이러한 항균제의 특정 농도에 대한 내성은 성장에 의해서 나타납니다.

3. 균 동정

LabPro 정보 관리자와 Beckman Coulter 웹사이트에서 제공되는 Biotype Lookup Program은 알려지지 않은 검사균 동정에 사용됩니다. 이 프로그램은 균 동정 및 상대적 확률을 99.9%의 누적 총계까지 높은 확률의 순서대로 표시합니다.

“Very Rare Biotype(매우 드문 바이오타입)”을 생성하는 바이오타입 숫자가 발생할 경우, LabPro Software(Utilities(유틸리티)>System(시스템)>Biotype Lookup(바이오타입 조회))를 참조하거나 Beckman Coulter 웹 사이트에서 Biotype Lookup Program을 참조하거나 Beckman Coulter 담당자 또는 대리점에 문의하십시오.

사용의 제약조건

1. *Haemophilus*와 기타 배양이 까다로운 그람 음성 세균은 중식 강화 물질이 보충되지 않은 Mueller-Hinton 액체 배지에서 중식하지 않습니다.
2. 본 설명서에 기술된 절차는 조건성 혐기성 및 호기성 그람 음성 간균에만 적용됩니다.
3. 낮은 확률의(<85 %) 동정을 얻을 경우 최종 동정을 결정하기 위해서 추가적 검사가 필요할 수 있습니다(MicroScan Biotype Lookup Program 또는 Microbiology Manual(미생물학 설명서) 참조).
4. 검사 결과를 판정하려면 훈련된 임상 전문가가 유기체 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. *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* 또는 *F. tularensis*로 동정된 것으로 추측되는 모든 분리주에 대해 보건당국에 통보해야 합니다. 이 세균의 분리주 확인에는 표준 검사실 또는 공중보건 검사실에서만 이용할 수 있는 전문적인 검사가 필요할 수 있습니다.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	파란색, 청록색, 녹색	파란색, 청록색	파란색, 청록색, 녹색	파란색, 청록색, 녹색
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	회색 - 노란색	회색 - 노란색/회색	노란색	해당 사항 없음
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	해당 사항 없음
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	해당 사항 없음
To ₄ ²	-	-	-	해당 사항 없음

- American Type Culture Collection, Manassas, VA USA
- 각 생화학물질에 대해 필요한 추가적인 양성 또는 음성 반응에 대해서는 추가 검사표를 참조하십시오.
- P. aeruginosa* ATCC 27853은 18시간 배양 후 VP에서 연분홍색을 생성할 수 있으며, 이 경우 음성으로 판정되어야 합니다.
- 패널을 18시간 넘게 배양할 경우 *E. coli* ATCC 25922에서 약한 양성 반응을 얻을 수 있습니다.
- 48시간의 배양이 필요할 수 있습니다.

N/A = 해당 사항 없음

참고: 정도관리균은 모든 동정 기질에 양성/음성 반응을 제공하기 위해 선택됩니다. 따라서, 균 동정은 QC 차트에 기재된 동정과 다를 수 있습니다. 제품 성능의 수용 가능성 여부는 동정이 아니라 검사 결과를 비교하여 결정해야 합니다.

추가 검사표

균	기질	예상 결과
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. haliotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

균	기질	예상 결과
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

건조된 그람 음성 동정 - 체계화된 ID QC ¹					
QC 균	ATCC 번호	주요 지시약 기질	예상 결과	사양을 벗어난 결과	불안정 기질
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	예
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	예

1. 정도관리를 위한 주요 지시약이 CLSI 문서 M50-A에 따른 체계화된 QC를 위해 제공됩니다.⁴ 체계화된 QC 프로그램을 실행하기 전에 M50-A 문서를 참조해 세부사항을 확인하고 해당 감독기관 및 검사기관에 문의해 승인 여부를 확인하십시오.

성능 특성

MicroScan 건조 그람 음성 동정 패널에 대한 성능 특성은 다기관 연구에서 확립되었습니다. 임상분리주와 보존 균주는 일반 임상 검사실에서 예상되는 유형의 세균 군집을 나타내기 위해서 건조 음성 ID 타입 2 패널에서 기존 튜브 검사법에 따라 검사되었습니다. 데이터베이스에 포함된 균의 전체 목록은 Microbiology Information Manual(미생물학 정보 설명서)의 건조 (기존) 음성 패널: 그람 음성 호기성 간균 섹션을 참조하십시오.

기준 방법에 일치하는 비율

검사 횟수	정확한 동정 수	정확한 동정률
609	593	97.4

재현성

재현성은 다양한 조건에서 여러 번의 반복 검사를 통해 설정됩니다(예: 패널 로트, 일수, 장비, 사용자). 여기에는 QC 균주, 임상 분리주 또는 둘 다 포함될 수 있습니다. 전체 일치율은 $\geq 95\%$ 입니다.

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.

사용자 고지 사항

MicroScan 패널과 관련하여 발생한 모든 심각한 사고는 Beckman Coulter와 사용자 및/또는 환자가 위치한 회원국의 관할 당국에 보고해야 합니다.

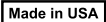
개정 이력

개정	날짜	설명
AA	2022년 5월	최초 발행
AB	2022년 12월	다음 내용이 업데이트되었습니다. 재현성

기호 목록

Beckman Coulter 미생물학 제품의 라벨에 사용되는 기호는 다음과 같습니다.

기호 목록			
기호	기호 제목	표준 설명	표준
②	재사용 금지	일회용이거나 한 번 시술 시 한 명의 환자에만 사용 가능한 의료 기기임을 나타냅니다.	ISO 15223-1, 제 5.4.2항
	사용 기한	이 날짜가 지나면 의료기기를 더 이상 사용할 수 없습니다.	ISO 15223-1, 제 5.1.4항
LOT	배치 코드	배치나 로트를 식별할 수 있는 제조업체의 일련번호를 나타냅니다.	ISO 15223-1, 제 5.1.5항
REF	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, 제 5.1.3항
EC REP	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, 제 5.5.5항

기호 목록			
기호	기호 제목	표준 설명	표준
	체/외 진단 의료 기기	체/외 진단용으로 사용되는 의료 기기를 나타냅니다.	ISO 15223-1, 제 5.5.1항
	온도 한계	의료기기를 안전하게 노출시킬 수 있는 온도 한도를 나타냅니다.	ISO 15223-1, 제 5.3.7항
	사용 안내 참조	사용 안내를 참조해야 함을 나타냅니다.	ISO 15223-1, 제 5.4.3항
	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, 제 5.3.1항
	이 쪽이 위면	올바르게 똑바로 세웠을 때의 위치를 나타냅니다.	ISO 7000: 0623
	미국 전용 정보	해당 정보가 미국 판매용으로 고안된 제품에서만 필요함을 나타냅니다.	해당 없음
	처방용	“주의: 연방법에서는 이 장치를 의사가 직접 판매하거나 의사의 지시에 따라서만 판매하도록 제한하고 있습니다.”의 대체 내용으로 미국 FDA 승인	21CFR 801.109(b)(1)
	생물학적 위험	의료 기기와 관련하여 생물학적 위험이 있을 수 있음을 나타냅니다. 참고: 작업장에서 사용하는 “생물학적 위험” 기호와 이 기호를 혼동해서는 안 됩니다.	ISO 15223-1, 제 5.4.1항
	위험	해당 없음	해당 없음
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 Negatif ID2 Prosedür Kılavuzu, LabPro ≥V5.0

REF B1017-27

KULLANIM AMACI

MicroScan Neg ID Panel Tip 2, izole kolonilerden hızlı üreyen aerobik ve fakültatif anaerobik gram negatif bakterilerin tür seviyesindeki tanımlamalarının kalitatif olarak belirlenmesi için tasarlanmış bir *in vitro* diyagnostik medikal cihazdır. İnkübasyon ve sonuç belirleme yöntemleri, WalkAway cihazında tam otomasyonu veya autoSCAN-4 cihazında okumayla ya da sonuçları LabPro veri yönetim sistemine girme seçeneği kullanılarak manuel okumayla otomatik olmayan çevrimdışı inkübasyonu içerir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

ÖZET VE İLKE

Panellere, standardize edilmiş bir organizma süspansiyonuyla inokülasyon ve rehidrasyon uygulanmasından sonra 35°C'de minimum 16 saat süreyle inkübe edilir. Fermentatif ve fermentatif olmayan gram negatif bakterilerin tanımlanması için modifiye geleneksel ve kromojenik testler kullanılır. Tanımlama 35°C'de 16-42 saatlik inkübasyonun ardından antimikrobiyal ajanların varlığındaki üremenin, pH değişikliklerinin ve substrat kullanımının tespitine dayanmaktadır.¹

Negatif Tanımlama Paneli Tip 2			
Substratlar	Kıs.	Substratlar	Kıs.
Glukoz	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sukroz	SUC	Sitrat	CIT
Sorbitol	SOR	Malonat	MAL
Rafinoz	RAF	o-Nitrofenil-β-D-Galaktopiranozid	ONPG
Ramnoz	RHA	Tartarat	TAR
Arabinoz	ARA	Asetamid	ACE
İnositol	INO	Setrimid	CET
Adonitol	ADO	OF Glukoz	OF/G
Melibiyoz	MEL	OF Baz	OF/B
Üre	URE	Dekarboksilaz Baz	DCB
Hidrojen Sülfür	H ₂ S	Nitrat	NIT
İndol	IND	Penisilin G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lizin	LYS	Kanamisin 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginin	ARG	Kolistin 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornitin	ORN	Nitrofurantoin 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Triptofan Deaminaz	TDA	Sefalotin 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Eskülin	ESC	Tobramisin 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Tanımlama amacıyla kullanılan antimikrobikler.

KLİNİK GEÇERLİLİK

Tanımlama testinin sonuçları semptomatik hastalarda tedaviyi iyileştirmek için diğer laboratuvar sonuçları ve klinik indikatörlerle birlikte kullanılır.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Yalnızca *in vitro* tanısal 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. Yalnızca tek kullanımlıktır. Aksi belirtilmediği sürece (örneğin kapak tepsileri) hiçbir MicroScan paneli ve sarf malzemesi tekrar kullanılmamalıdır.
6. Bu ürün, dehidre edilmiş mikrobiyoloji besiyerlerinden hayvan kökenli madde/maddeler içerir. Bu ürünle çalışırken korunma için genel güvenlik yönergelerine uyun.

SAKLAMA

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

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

BOZULMA GÖSTERGESİ

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 Dağıtımınıza başvurun.

NUMUNENİN TOPLANMASI VE HAZIRLANMASI

Uygun numuneler *Manual of Clinical Microbiology*'de (Klinik Mikrobiyoloji Kılavuzu) önerilen prosedürlere göre alınmalı, nakledilmeli ve primer izolasyon ortamlarına yerleştirilmelidir.²

SAĞLANAN MALZEMELER

Negatif Tanımlama Tip 2 (B1017-27)

Prosedür ve Kalite Kontrol Kılavuzu

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

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

%10'luk Ferrik Klorür, 30 mL (B1010-48A) ya da 250 mL (B1015-48)

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

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

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

0,5 McFarland Türbidite Standardı

100 µL pipetör

Barkod Etiket Kağıdı (B1018-129)

Panel Kapakları (B1010-56B)

Genel Laboratuvar Ekipmanı

Kovaks Reaktif, 30 mL (B1010-41A) veya 250 mL (B1015-41)

Manuel Panel İşlem Sayfaları (manuel olarak okunan sonuçların kaydedilmesi için kullanılır)

Mikrodilüsyon izleyici

Mineral Yağ, 60 mL (B1010-40)

Mineral Yağ, 250 mL (B1010-40A)

Oksidaz reaktifi

Kalite Kontrol Organizmaları (Bu kılavuzun KK bölümüne başvurun)

Kalite Kontrol Raporu Formları

Reaktif Damlatma Kiti (B1013-12A)

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

Türbidimetre

Vorteks

TEK KULLANIMLIK MATERYALLER

%0,85'lik Otoklavlanmış Salin, 3 mL

Tek kullanımlık steril pipet uçları

İnokülatör-D Seti (B1013-4)

İnokülüm Suyu, 3 mL (B1015-2)

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

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

Kapama Şeritleri (B1010-51)

WalkAway Tepsi Kapakları (B1018-18)

*PLURONIC® Sürfaktanları. BASF Corporation, Parsippany, NJ USA şirketinin tescilli ticari markasıdır.

**3M, St. Paul, MN USA

PROSEDÜR

Panel Hazırlığı

1. Kullanılacak panelleri saklama alanından çıkarın. Ambalaj bütünlüğü bozulmuşsa (açılmış, delinmiş ya da yırtılmış) kullanmayın.
2. Poşeti keserek açın ve paneli çıkarın. Buzdolabında saklanmış olması durumunda paneli hemen folyo poşetten çıkarın.
3. **Aşağıdaki durumların herhangi birinin söz konusu olması halinde paneller kullanılmamalıdır:**
 - A. Nem alıcının mevcut olmaması ya da kırılmış olması durumunda.
 - B. Panel kuyucuklarının renginin bozulmuş olması durumunda (örneğin DCB ve çeşitli antimikrobikler).
4. 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.

İnokülüm Hazırlığı

CLSI, koloni sayımı yaparak inokülüm yoğunluklarının periyodik olarak kontrol edilmesini önermektedir. Koloni sayımı önerileri için CLSI belgesi M07, 11. baskıya bakın. *E. coli* ATCC 25922 için beklenen sonuçlar, son test konsantrasyonları için 5×10^5 CFU/mL'ye çok yakın bir değer olmalıdır.³ Kullanıcı, özellikle Prompt sistemi gibi tekniğe dayanan manuel yöntemler kullanıldığında veya inokülüm bir fotometrik cihaz olmadan hazırlandığında, inokülümün hazırlanması konusunda çok dikkatli olmalıdır.

1. Türbidite Standardı Tekniği — Primer İnokülüm Yöntemi

Türbidite standardı tekniği, tüm aerobik gram negatif basillerin direkt inokülasyonu için önerilir.

- A. 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.
- B. 3 mL İnokülüm Suyu (otoklavlanmış deiyonize su) içinde emülsifiye edin.
- C. Kapağı sıkıca kapatın ve süspansiyonu 2-3 saniye vorteksleyerek karıştırın.
- D. Son türbidite 0,5 McFarland Türbidite Standardına eşdeğer olmalıdır. $0,08 \pm 0,02$ aralığına sahip bir MicroScan Türbidimetre kullanılarak eşdeğer bir türbiditeye ulaşılabilir.
- E. 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

Prompt Sistemi gram negatif basillerin inoküle edilmesi için 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, hatalı duyarlılık ve tanımlama testi sonuçlarının alınmasına neden olabilir.

Oksidaz Testi

Panellere inokülasyon uygulamadan önce bir oksidaz testi gerçekleştirin. Sonuçları işlem sayfasındaki uygun boşluğa ya da cihazın gerektirdiği şekilde kaydedin. Oksidaz sonuçları, taksonların ayrılmasını ve fermentör olmayanların (ör. *Acinetobacter baumannii* kompleksi) erken bildirilmesini desteklemektedir. WalkAway Sistemleri için, oksidaz sonuçlarının barkodlar yazdırılmadan önce girilmesi önerilir. Bazı fermentör olmayanlar üremeye bağlı olarak yine de 42 saate kadar bekleyebilir. Önerilen oksidaz reaktifi tetrametil-p-fenilen-diamin-dihidroklörürdür.

Panel Rehidrasyonu/İnokülasyonu

Rehidrasyon ve inokülasyon, Inoculators-D (B1013-4) ile RENOK sistemi kullanılarak gerçekleştirilir. Kullanım için RENOK Operator's Manual (RENOK Kullanım Kılavuzu) belgesine bakın. Alternatif bir sistem kullanıldığında, $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ PLURONIC'li İnokülüm Suyu ile rehidrasyon uygulayın. $3-7 \times 10^5$ CFU/mL'lik bir son kuyucuk konsantrasyonu elde edilmelidir. 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 GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN ve DCB kuyucuklarını 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 Sistemleri (ve otomatik yağ kaplama özelliği ile yükseltilmiş WalkAway Sistemleri) uygun kuyucuklara otomatik olarak yağ ekler.

Kapama Şeridi

Yalnızca oksidaz pozitif gram negatif organizmalar için, CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B ve DCB kuyucuklarının üzerine bir kapama şeridi yerleştirin. Şeritteki çeyrek inçlik konumlandırma deliği, DCB kuyucuğu üzerine hizalanmalıdır. WalkAway Sistemlerinde kapama şeridi yerine kapak kullanılır.

İnkübasyon

1. Paneller, bir WalkAway Sisteminde inkübe edilebilir veya aşağıdaki adımlar uygulanarak bağlantısız şekilde inkübe edilebilir:
 - A. İnkübasyon 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 minimum 16 saat boyunca 35°C'de, bir CO₂'siz inkübatörde inkübe edin.

Panellerin Okunması

Paneller manuel olarak okunabilir ve sonuçlar Manuel Panel Bilgilerine ya da MicroScan cihazına (autoSCAN-4 ve WalkAway Sistemleri) kaydedilir. Panelleri MicroScan cihazıyla okumak için Kullanım Kılavuzu bakın.

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 kuyucuğu bulanık olduğu takdirde okuyun. Kontrol kuyucuğu bulanık olduğunda ya da üreme kuyucuğunda üreme olmadığında paneli okumayın. 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 ya da üreme olmaması 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 (dolaylı aydınlatılan) bir arka plan önünde okunması gereken CET ve tanımlama için kullanılan antimikrobiyaller (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) dışındaki tüm tanımlama substratlarını beyaz bir arka plan önünde okuyun.
- B. Aşağıdaki substratlar her zaman 16-24 saatte okunur: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Aşağıdakilerden biri geçerliyse:
 - a. GLU veya SUC veya SOR pozitif ya da
 - b. ARG pozitif ve OF/G pozitif ya da
 - c. ARG pozitif ve CET pozitif ya da
 - d. LYS pozitif ya da
 - e. ORN pozitif ya da
 - f. OXI negatif ve OF/G pozitif ve Fd₆₄ pozitif ve MAL pozitif.

Ardından reaktifleri ekleyin ve 16-24 saatlik inkübasyondan sonra kalan substratları okuyun. Yukarıdaki koşulların hiçbir geçerli değilse, reaktif eklemeyin ve kalan substratlar okunmadan önce panellere ilave bir 24 saat boyunca yeniden inkübasyon uygulayın.

- D. Yeniden inkübasyonun ardından organizma hala reaktif olmamış görünüyorsa kontrol ederek organizmanın fenol kırmızısı karbonhidratlar içinde üremiş olduğundan emin olun (özellikle de Mueller-Hinton üreme kontrolünde yetersiz üreme mevcut olduğunda ya da hiç üreme bulunmadığında). Fenol kırmızısı karbonhidratlar içinde üreme yoksa, halofilik *Vibrio* türleri gibi zor üreyen organizmalardan şüphe edilmelidir. Organizmanın gram-negatif olduğunun doğrulanması için Gram boyama tekrarlanmalıdır.
 - a. Halofilik *Vibrio* türlerinin neden olduğu klinik olarak anlamlı bir hastalıktan şüphelenilirse, birkaç koloniyi 3,0 mL'lik steril %0,85 salinin içinde emülsifiye ederek yeniden test edin ve ayrıca, yazılım tarafından önerildiği şekilde tuzda üreme de dahil olmak üzere ek testler gerçekleştirin. Nihai türbidite 0,5 McFarland Türbidite Standardına eşdeğer olmalıdır. 0,08 ± 0,02 aralığına sahip bir MicroScan Türbidimetre kullanılarak eşdeğer bir türbiditeye ulaşılabilir. RENOK kullanarak paneli inkübe edilmiş 25 mL PLURONIC'li İnokülüm Suyu ile rehidrate edin. Steril bir transfer pipeti kullanarak üreme, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ ve Fd₆₄ kuyucukları

dahil, tanımlama kuyucuklarının her birine bir damla (45-50 µL) salin süspansiyonu ilave edin. Diğer tüm panel işleme adımları izlenmelidir.

E. Okumadan önce reaktifleri aşağıdaki şekilde ilave edin:

- VP kuyucuğuna 1 damla %40'lık Potasyum Hidroksit (KOH) ve 1 damla %5'lik Alfa Naftol ilave edin. VP reaksiyonunun gelişmesi için en az 20 dakika bekleyin.
- TDA kuyucuğuna 1 damla %10'luk Ferrik Klorür ilave edin. Renk hemen oluşacaktır.
- IND kuyucuğuna 3 damla MicroScan Kovaks reaktifi ilave edin. Renk hemen oluşacaktır.
NOT: MicroScan Kovac reaktifi MicroScan Cihazı ile kullanım için tasarlanan özel bir formüldür. Panellerin manuel olarak okunması durumunda sadece bir damla kullanılması gerekir.
- NIT kuyucuğuna 1 damla %0,8'lik Sülfanilik Asit ardından 1 damla %0,5'lik N, N-Dimetil-alfa-naftilamin ilave edin. Okumadan önce, NIT reaksiyonunun gelişmesi için en az 5 dakika bekleyin.

F. Biyokimyasal yorum konusunda yardım için SONUÇLAR bölümüne bakın.

SONUÇLAR

1. Biyokimyasal Yorumlar

Kuyucuk	Reaktif	Pozitif	Negatif
GLU		Yalnızca Belirgin Sarı	Turuncu ila Kırmızı
		Fermentör olmayanların bazıları negatif olarak kabul edilmesi gereken bir altın rengi oluşturabilir.	
SUC		Sarı ila Sarı/Turuncu	Turuncu ila Kırmızı
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Macenta ila Pembe	Sarı, Turuncu ya da Açık Pembe
H ₂ S		Siyah Çökelme ya da Siyah Düşme	Siyahlaşma Yok
IND	3 damla (ya da panel gözle okunuyorsa bir damla) MicroScan Kovaks Reaktifi ilave edin. Renk hemen oluşur.	Pembe ila Kırmızı	Uçuk Sarı ila Turuncu
		<i>Providencia</i> sp. pozitif olarak kabul edilmesi gereken uçuk pembe halka oluşturabilir.	
LYS, ARG ve ORN'yi DCB ile karşılaştırın. Sonuçların geçerli olması için bu kuyucuklar yağ ile kaplanmalıdır. Gri bir DCB kuyucuğuyla karşılaştırıldığında mor, pozitif olarak değerlendirilir. Sarı bir DCB kuyucuğuyla karşılaştırıldığında gri, pozitif olarak değerlendirilir. Fermentör olmayanlar için pozitif test baz kontrolden belirgin bir şekilde daha mor olmalıdır. Baz kontrol mor olduğu takdirde, bazal ortam alkaline olmuştur ve LYS, ARG ve ORN'nin tümünün negatif olarak kaydedilmesi gerekir. <i>Achromobacter</i> türleri ve <i>Ochrobactrum anthropi</i> bu yönde eğilim gösterir.			
LYS		Mor ila Gri	Fermentörler: Sarı
ARG			Fermentör olmayanlar:
ORN		Mor	Renksiz ila Gri
TDA	1 damla %10'luk Ferrik Klorür ilave edin. Renk hemen oluşur.	Herhangi bir Kahverengi Tonu	Sarı ila Turuncu
ESC		Açık Kahverengi ila Siyah	Bej ila Renksiz
VP	1 damla %40'lık KOH ve 1 damla %5'lik Alfa Naftol ilave edin. Reaksiyonun gelişmesi için en az 20 dakika bekleyin.	Kırmızı	Renksiz
		Fermentör olmayanların bazıları 18 saatlik inkübasyondan sonra negatif olarak kabul edilmesi gereken soluk pembe renk oluşturabilir.	

Kuyucuk	Reaktif	Pozitif	Negatif
ONPG		Sarı	Renksiz
		Berrak görünen herhangi bir ONPG kuyucuğunu setrimid kuyucuğuyla karşılaştırın. Setrimid kuyucuğu ile karşılaştırıldığında ONPG herhangi bir sarı renk tonu sergilediği takdirde sonucu pozitif olarak kaydedin.	
CIT MAL TAR ACE		Mavi ila Mavi-Yeşil Herhangi bir mavi tonu pozitif kabul edilir	Yeşil ila Sarı
CET		Üreme	Üreme Yok
OF/G		Sarı	OF bazı Yeşil olduğunda: Yeşil ila Mavi
		Sarı ila Yeşil	OF bazı Mavi ila Mavi-Yeşil ise: Mavi
		OF/G kuyucuğunu OF baz kontrolü ile karşılaştırın.	
NIT	1 damla %0,8'lik Sülfanilik Asit ve ardından 1 damla %0,5'lik N, N-Dimetil-alfa-naftilamin ilave edin. Reaksiyonun gelişmesi için en az 5 dakika bekleyin.	Kırmızı	Renksiz ila Uçuk Pembe
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Üreme (Dirençli)	Üreme Yok (Duyarlı)
LOC	Yalnızca autoSCAN-4 ve WalkAway Sistemi panel tanımlaması içindir.		

2. Tanımlama Reaksiyonlarının Prensipleri

Karbonhidrat Fermantasyonu (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Özgül karbonhidratın fermantasyonu asit üretimine neden olur ve fenol kırmızısı indikatörü ile bir pH düşüşü 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.

Hidrojen Sülfür (H₂S): Hidrojen sülfür gazı sodyum tiyosülfattan üretilir ve ortamdaki ferrik iyonlarla reaksiyona girerek siyah bir çökelti oluşturur.

İndol (IND): Triptofan metabolizması indol oluşumuna neden olur ve indol Kovac reaktifi ilave edilerek tespit edilir. İndol varsa kırmızı renk oluşur.

Lizin, Arjinin, Ornitin (LYS, ARG, ORN): Bu amino asitlerin dekarboksilasyonu, brom krezol moru indikatörü ile tespit edilen bazik amin oluşumuna yol açar.

Triptofan Deaminaz (TDA): Triptofanı deamine edebilen bakteriler indolpirüvik asit oluşturur ve bu, ferrik klorür ilave edilmesinin ardından ortamdaki ferrik amonyum sitratla reaksiyona girerek kahverengi renk meydana getirir.

Eskülin Hidrolizi (ESC): Eskülin hidrolizi ortamda bulunan ve hidrolitik ürünlerle reaksiyona girerek siyah bir çökelti oluşturan ferrik amonyum sitrat ile tespit edilir.

Voges-Proskauer (VP): Sodyum pirüvattan asetoin üretilir ve %40'lık Potasyum Hidroksit ve %5'lik Alfa Naftol ilave edilmesinden sonra kırmızı rengin oluşması ile gösterilir.

Galaktosidaz (ONPG): β-galaktosidaz, orto-nitrofenil-β-D-galaktopiranozidi hidrolize eder ve bu da sarı renkli orto-nitrofenolün serbestleşmesini sağlar.

Sitrat, Malonat, Asetamid, Tartarat (CIT, MAL, ACE, TAR): Bu substratların metabolizma için tek karbon kaynağı olarak kullanılması bromtimol mavisi indikatörü ile tespit edilen pH artışına neden olur.

Oksidasyon-Fermantasyon (OF/G): Glukozun oksidasyonu asit üretimine neden olur ve bromtimol mavisi indikatörü ile bir pH düşüşü tespit edilir. Herhangi bir asit üretimi meydana gelip gelmediğinin tespit edilmesi için OF/G, OF/B (baz) ile karşılaştırılır.

Nitrat (NIT): Bir organizmanın nitrati, nitrite indirgeme yeteneği N,N-Dimetil-alfa-naftilamin ve Sülfanilik Asit ilave edilmesiyle tespit edilir ve bu maddeler nitrit varlığında kırmızı renk oluşturur.

Setrimid (CET): Setrimide olan tolerans setrimid ilave edilmiş Mueller-Hinton sıvı besiyerinde üreme meydana gelmesiyle ortaya konur.

Penisilin, Kanamisin, Kolistin, Sefalotin, Nitrofurantoin, Tobramisin (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Bu antimikrobiyal ajanların belirli konsantrasyonlarına karşı direnç, üreme ile gösterilir.

3. Organizma Tanımlaması

LabPro Bilgi Yöneticisi ve Beckman Coulter web sitesindeki Biotype Lookup Program, bilinmeyen test organizmalarının tanımlanması için kullanılır. Program organizma tanımlamasını ve rölatif olasılıkları, %99,9'luk bir kümülatif toplama kadar en yüksek olasılık sırasıyla sıralar.

"Very Rare Biotype" (Çok Nadir Biotip) ile sonuçlanan bir biyotip numarasıyla karşılaşırsanız, LabPro Yazılımına (Utilities (Yardımcı Programlar)>System (Sistem)>Biotype Lookup (Biyotip Arama)), Beckman Coulter web sitesinde bulunan Biotype Lookup Program'a veya Beckman Coulter Temsilcinize ya da Dağıtıcınıza danışın.

METODUN SINIRLILIKLARI

1. *Haemophilus* ve diğer zor üreyen gram negatif bakteriler, üreme zenginleştirme faktörleri ilave edilmemiş Mueller-Hinton sıvı besiyerinde üremez.
2. Burada tarif edilen prosedürler yalnızca fakültatif anaerobik ve aerobik gram negatif basiller için uygundur.
3. Düşük olasılıklı bir tanımlama elde edildiğinde (<%85) son tanımlamayı belirlemek için ek testlerin yapılması gerekebilir (MicroScan Biotype Lookup Program veya Microbiology Manual'a (Mikrobiyoloji Kılavuzu) başvurun).
4. Test sonuçları, bir organizmaya ilişkin tanımlamayı kabul etmeden önce karara, bilgiye ve gerekli olduğu hallerde ilave doğrulayıcı testlere başvurusu gereken eğitimli klinik personel tarafından yorumlanmalıdır.
5. Biotip numaraları aynı hastadan alınan farklı numunelerde izole edilmiş suşlara ilişkin fenotip tanımlaması için kullanılmamalıdır.
6. *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* veya *F. tularensis* şeklinde varsayımsal olarak tanımlanan tüm izolatlar, kamu sağlığı görevlilerine bildirilmelidir. Bu bakterilerin izolatlarının doğrulanması için, yalnızca referans veya kamu sağlığı laboratuvarlarında mevcut olan özel testlerin yapılması gerekebilir.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Mavi, Mavi-Yeşil, Yeşil	Mavi, Mavi-Yeşil	Mavi, Mavi-Yeşil, Yeşil	Mavi, Mavi-Yeşil, Yeşil
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Gri ila Sarı	Gri ila Sarı-Gri	Sarı	Yok
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Yok
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₂ ²	V	+	V	Yok
To ₄ ²	-	-	-	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. *P. aeruginosa* ATCC 27853, 18 saatlik inkübasyonun ardından VP'de negatif olarak yorumlanması gereken soluk pembe bir renk oluşturabilir.

4. Paneller 18 saatten fazla inkübe edildiği takdirde *E. coli* ATCC 25922 ile zayıf bir pozitif reaksiyon elde edilebilir.

5. 48 saatlik inkübasyon gerektirebilir.

N/A = Uygulanamaz

NOT: Kalite Kontrol organizmaları tüm tanımlama substratları için pozitif/negatif reaksiyonlar sağlamak üzere seçilir. Sonuç 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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Kurutulmuş Gram Negatif Tanımlama — Basitleştirilmiş Tanımlama KK ¹					
KK Organizması	ATCC Numarası	Anahtar İndikatör Substratı	Beklenen Sonuç	Spesifikasyon Dışı Sonuç	Labil Substrat
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Evet
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Evet

1. Kalite Kontrolle ilişkin temel indikatörler M50-A sayılı CLSI dokümanına göre basitleştirilmiş KK için sunulmaktadır.⁴ Basitleştirilmiş KK programını uygulamadan önce, ayrıntılar için M50-A dokümanına başvurun ve kabul edildiğini onaylamak için ilgili düzenleyici kurumlar ve inceleme grupları ile görüşün.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

MicroScan Kurutulmuş Gram Negatif Tanımlama paneline ait performans değerleri çok merkezli bir çalışmada belirlenmiştir. Klinik izolatlar ve stok suşlar, rutin klinik laboratuvarında beklenen bakteriyel popülasyon tipini göstermek üzere Kurutulmuş Neg ID Tip 2 paneli ve geleneksel tüp metodolojileri ile test edilmiştir. Veritabanında bulunan organizmaların tam listesi için Microbiology Information Manual'da (Mikrobiyolojik Bilgi Kılavuzu) Kurutulmuş (Geleneksel) Neg Paneller: Gram-Negatif Aerobik Basiller bölümüne bakın.

Referans Yöntemiyle Uyum Yüzdesi

Test Sayısı	# Doğru Tanımlama	% Doğru Tanımlama
609	593	97,4

TEKRARLANABİLİRLİK

Farklı koşullarda (ör. panel lotları, günler, cihazlar, kullanıcılar) birden fazla kopya test edilerek tekrar üretilebilirlik belirlenir. Bu, KK suşlarını, klinik izolatları veya her ikisini içerebilir. Genel uyuma $\geq 95\%$ olmuştur.

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.

KULLANICIYA BİLDİRİM

MicroScan panelleriyle ilgili olarak meydana gelen tüm ciddi olaylar Beckman Coulter'a ve kullanıcının ve/veya hastanın ikamet ettiği Üye Ülkenin yetkili otoritesine bildirilmelidir.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON	TARİH	AÇIKLAMA
AA	Mayıs 2022	İlk Sürüm
AB	Aralık 2022	Güncellendi: Tekrarlanabilirlik

Sembol Anahtarı

Aşağıdaki semboller Beckman Coulter Mikrobiyoloji ürünlerinin etiketinde kullanılabilir.

Sembol Anahtarı			
Sembol	Sembol Başlığı	Standardın Açıklaması	Standart
	Tekrar kullanmayın	Bir kez kullanılması ya da tek bir hastada tek bir prosedürde kullanılması amaçlanan medikal cihazı belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.4.2
	Son kullanma tarihi	Medikal cihazın sonrasında kullanılmayacağı tarihi belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.1.4
	Seri Kodu	Parti veya lot tanımlanabilecek şekilde üreticinin parti numarasını belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.1.5
	Katalog Numarası	Medikal cihazın tanımlanabilmesi için üreticinin katalog numarasını belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.1.6
	Üretici	AB Yönetmelikleri 90/385/EEC, 93/42/EEC ve 98/79/EC'de tanımlandığı şekilde medikal cihaz üreticisini belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.1.1
	Üretim Tarihi	Medikal cihazın üretildiği tarihi belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.1.3
	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 kitlelerine dahildir).	ISO 15223-1, madde 5.5.5

Sembol Anahtarı			
Sembol	Sembol Başlığı	Standardın Açıklaması	Standart
	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, madde 5.3.7
	Kullanma Talimatına Başvurun	Kullanıcının kullanma talimatına başvurması gerektiğini belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.4.3
	CE İşareti	Avrupa Uyumu Düzenleyici İşareti	uygulanamaz
	İçindekiler	uygulanamaz	uygulanamaz
	İçerik (paket)	Antimikrobiyal Ajan (kısaltma)	uygulanamaz
	İçerik (paket)	Tanımlama Substratı (kısaltma)	uygulanamaz
	Güvenlik Bilgi Formu	Güvenlik bilgi formunu belirtir.	uygulanamaz
	Made in USA	uygulanamaz	uygulanamaz
	Sadece İhracat Amaçlı Kullanım İçindir	uygulanamaz	uygulanamaz
	Sulandırma Hacmi	uygulanamaz	uygulanamaz
	Kırılabilir, dikkatli tutun	Medikal cihazın dikkatli taşınmaması halinde kırılabilceğini veya hasar görebileceğini belirtir.	ISO 15223-1, madde 5.3.1
	Bu kısım yukarıya gelecektir	Doğru dikey konumu belirtir	ISO 7000: 0623
	Yalnızca ABD için bilgi	Yalnızca ABD'de satılması amaçlanan ürünler için gereken bilgiyi belirtir.	uygulanamaz
	Yalnızca Reçeteyle Kullanım	ABD FDA tarafından "Dikkat: Federal yasa bu cihazın satışını lisanlı bir hekim tarafından veya hekimin talebi üzerine yapılacak şekilde kısıtlar" ifadesine alternatif olarak kabul edilmiştir	21CFR 801.109(b)(1)
	Biyolojik Riskler	Medikal cihazla ilişkili potansiyel biyolojik riskler olduğunu belirtir. Not: Bu sembol, çalışma alanında kullanılması amaçlanan "biyolojik tehlike" işareti ile karıştırılmamalıdır.	ISO 15223-1, madde 5.4.1
	Tehlike	uygulanamaz	uygulanamaz
ISO 15223-1: Medical Devices - Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Medikal cihazlar — Medikal Cihaz Etiketleriyle kullanılacak semboller, Etiketleme ve Temin Edilecek Bilgiler. 1. Bölüm: Genel Gereklilikler).			

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

MicroScan

Практическое руководство по работе с панелью ID2 для грамотрицательных микроорганизмов, LabPro ≥V5.0

REF B1017-27

НАЗНАЧЕНИЕ

Панель для идентификации грамотрицательных микроорганизмов MicroScan типа 2 представляет собой медицинское изделие для диагностики *in vitro*, предназначенное для качественного определения видовой принадлежности быстрорастущих аэробных и факультативно анаэробных грамотрицательных бацилл в выделенных колониях. При инкубации и определении результатов можно использовать полную автоматизацию с помощью приборов WalkAway или неавтоматическую автономную инкубацию со считыванием данных приборами autoSCAN-4 или ручным считыванием с возможностью ввода результатов в систему управления данными LabPro.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПРИНЦИП РАБОТЫ

После инокуляции и регидратации стандартизированной суспензией микроорганизмов панели инкубируют в течение как минимум 16 часов при температуре 35°C. Для идентификации ферментирующих и неферментирующих грамотрицательных палочковидных бацилл используются модифицированные стандартные и хромогенные тесты. Идентификация основана на определении изменений pH, утилизации субстрата и роста в присутствии антибактериальных препаратов после 16–42 часов инкубации при температуре 35°C.¹

Панель ID типа 2 для грамотрицательных микроорганизмов			
Субстраты	Сокр.	Субстраты	Сокр.
Глюкоза	GLU	Фогеса-Проскауэра	VP
Сахароза	SUC	Цитрат	CIT
Сорбитол	SOR	Малонат	MAL
Рафиноза	RAF	о-Нитрофенил-β-D-галактопиранозид	ONPG
Рамноза	RHA	Тартрат	TAR
Арабиноза	ARA	Ацетамид	ACE
Инозитол	INO	Цетримид	CET
Адонитол	ADO	Глюкоза OF	OF/G
Мелибиоза	MEL	Контрольная лунка OF	OF/B
Мочевина	URE	Декарбоксилазная среда	DCB
Сероводород	H ₂ S	Нитрат	NIT
Индол	IND	Пенициллин G 4 мкг/мл ¹	P ₄
Лизин	LYS	Канамицин 4 мкг/мл ¹	K ₄
Аргинин	ARG	Колистин 4 мкг/мл ¹	Cl ₄
Орнитин	ORN	Нитрофурантоин 64 мкг/мл ¹	Fd ₆₄
Триптофандеаминаза	TDA	Цефалотин 8 мкг/мл ¹	Cf ₈
Эскулин	ESC	Тобрамицин 4 мкг/мл ¹	To ₄

1. Антибактериальные препараты, используемые для идентификации микроорганизмов.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Результаты идентификационных тестов в сочетании с результатами других лабораторных исследований и клиническими показателями используются для уточнения терапии у пациентов с симптомами соответствующей инфекции.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*.
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. Только для однократного использования. Все панели MicroScan и расходные материалы нельзя использовать повторно, если не указано иное (например, крышки лотков).

6. Данный продукт содержит материал(ы) животного происхождения из дегидрированной микробиологической среды. Для защиты при обращении с этим продуктом следует соблюдать общие рекомендации по технике безопасности.

ХРАНЕНИЕ

Планшеты с сухими средами для грамотрицательных микроорганизмов следует хранить при температуре 2–25°C.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество



Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

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 ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Подлежащие исследованию образцы должны собираться, транспортироваться и высеваться на питательные среды для первичной изоляции в соответствии с методиками, рекомендованными в *Руководстве по клинической микробиологии*.²

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Панель ID типа 2 для грамотрицательных микроорганизмов (B1017-27)

Практическое руководство по работе с панелями и контролю качества

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

5% раствор альфа-нафтола, 30 мл (B1010-42A)

10% раствор хлорида железа, 30 мл (B1010-48A) или 250 мл (B1015-48)

0,5% раствор N, N-диметил-альфа-нафтиламина, 30 мл (B1010-45A) или 250 мл (B1015-45)

40% раствор гидроксида калия, 30 мл (B1010-43A) или 250 мл (B1015-43)

0,8% раствор сульфаниловой кислоты, 30 мл (B1010-44A) или 250 мл (B1015-44)

Стандарт мутности 0,5 по МакФарланду

Пипеттор 100 мкл

Бумага для печати этикеток со штрихкодом (B1018-129)

Лотки-крышки (B1010-56B)

Лабораторное оборудование общего назначения

Реагент Ковача, 30 мл (B1010-41A) или 250 мл (B1015-41)

Бланки регистрации результатов при ручном считывании панелей (используются для регистрации результатов при ручном считывании)

Анализатор панелей для микроразведения

Минеральное масло, 60 мл (B1010-40)

Минеральное масло, 250 мл (B1010-40A)

Оксидазный реактив

Контрольные микроорганизмы (см. раздел «Контроль качества» данного руководства)

Бланки для регистрации результатов контроля качества

Комплект для раскапывания реагентов (B1013-12A)

RENOK — регидратор/инокулятор (B1018-14) или эквивалентный прибор

Турбидиметр

Вортекс

ОДНОРАЗОВЫЕ МАТЕРИАЛЫ

0,85% солевой физраствор после автоклавирования, 3 мл

Одноразовые стерильные наконечники пипеток

Комплект инокулятора-D (B1013-4)
Вода для инокуляции, 3 мл (B1015-2)
Вода для инокуляции с PLURONIC®, 25 мл (B1015-7)*
Система для инокуляции Prompt® (B1026-10D)**
Пленка для заклеивания планшетов (B1010-51)
Крышки лотка WalkAway (B1018-18)

ПРОЦЕДУРА

Подготовка планшетов

1. Достаньте необходимые планшеты из места хранения. Не используйте планшеты в случае нарушения целостности упаковки (упаковка вскрыта, проколота или разорвана).
2. Разрежьте пакет и извлеките планшет. При хранении планшета в холодильнике немедленно извлеките планшет из индивидуального саше из фольги.
3. **Планшеты нельзя использовать во всех нижеперечисленных случаях:**
 - A. Отсутствие или повреждение влагопоглотителя.
 - B. Изменение цвета лунок планшетов (например, лунки DCB и лунок с различными антибактериальными препаратами).
4. 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.

Приготовление инокулята

CLSI рекомендует периодически проверять плотность инокулята путем подсчета количества колоний. В документе CLSI M07, 11-е изд., приводятся рекомендации по подсчету колоний. Ожидаемый результат для штамма *E. coli* ATCC 25922 должен быть близок к примерному значению в 5×10^5 КОЕ/мл для окончательных тестовых концентраций.³ Пользователь должен уделять особое внимание приготовлению инокулята, особенно при использовании ручных способов, зависящих от методики выполнения, например, при работе с системой Prompt или при работе без фотометрического устройства.

1. Стандартный турбидиметрический метод — метод первичной инокуляции

Стандартный турбидиметрический метод рекомендуется для непосредственной инокуляции всех аэробных грамотрицательных бактерий.

- 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 (автоклавированная деионизованная вода).
- C. Плотно закройте крышкой и интенсивно перемешайте суспензию в течение 2–3 секунд.
- D. Окончательная мутность должна соответствовать мутности стандарта 0,5 по МакФарланду. Эквивалентной мутности можно добиться при использовании турбидиметра MicroScan с диапазоном $0,08 \pm 0,02$.
- E. 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 инокуляции грамотрицательных палочковидных бактерий. Информация о надлежащем использовании системы Prompt приводится в документе Prompt Inoculation Procedural Manual (Практическое руководство по инокуляции с помощью системы Prompt).

ПРИМЕЧАНИЕ. Используйте с осторожностью. В случае использования слишком мелких колоний микроорганизмов, инокуляция может оказаться недостаточной. Недостаточная инокуляция может привести к неверным результатам теста на чувствительность и неверной идентификации.

*Поверхностно-активные вещества PLURONIC®. Зарегистрированный товарный знак компании BASF Corporation, Parsippany, NJ, США.

**Компания 3M, St. Paul, MN, США

Оксидазный тест

Перед тем, как приступить к инокуляции панелей, выполните тест на оксидазу. Зарегистрируйте результаты теста в отведенном в бланке регистрации месте или как требуется для используемого оборудования. Результаты теста на оксидазу позволяют отделить таксоны и на более раннем этапе определить неферментирующие бактерии (например, комплекс *Acinetobacter baumannii*). Результаты оксидазного теста для систем WalkAway рекомендуется вводить до распечатки штрихкодов. Некоторые неферментирующие бактерии могут оставаться жизнеспособными в течение времени до 42 часов в зависимости от степени роста. Рекомендованным оксидазным реагентом является тетраметил-п-фенилендиамин дигидрохлорид.

Регидратация/инокуляция планшета

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 мкл ± 10 мкл воды для инокуляции с 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 GLU, URE, H_2S , LYS, ARG, ORN и DCB 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. Системы WalkAway (и системы WalkAway с дополнительной функцией автоматического наслоения масла) автоматически добавляют масло в соответствующие лунки.

Полоса для покрытия планшета

Только для оксидазоположительных микроорганизмов: полосу размещают поверх лунок: CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B и DCB. Локационное отверстие диаметром 1/4 дюйма в ленте должно располагаться поверх лунки DCB. Для систем WalkAway вместо пленки для заклеивания панелей используется крышка.

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 планшетов 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 планшетов в течение минимум 16 часов при температуре 35°C в инкубаторе без CO_2 .

Считывание данных с планшетов

Панели могут считываться вручную с протоколированием результатов на бланке регистрации, или же считывание производится с использованием анализатора MicroScan (системы autoSCAN-4 и WalkAway). Инструкции по считыванию панелей с помощью анализатора MicroScan содержатся в Руководстве по эксплуатации.

1. Извлеките панели 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 лунка с ростом — мутная. Результаты исследования чувствительности к препаратам при помутнении контрольной лунки или отсутствии роста в лунке с ростом не учитываются. Помутнение может принимать вид белого вуалеобразного помутнения всей лунки, белой бляшки в центре лунки или роста мелких гранул по всей лунке. На недостаточный рост или его отсутствие 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 всех субстратов для идентификации осуществляется на белом фоне, за исключением лунок CET и лунок с антибактериальными препаратами для идентификации (Cl_4 , Cf_8 , P_4 , K_4 , Fd_{64} , To_4), считывание которых следует осуществлять на черном фоне (в отраженном свете).
 - B. Результаты по следующим субстратам всегда считываются через 16–24 часа: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P_4 , K_4 , Cl_4 , Fd_{64} , Cf_8 , To_4 .

- C. Если что-либо из следующего является верным:
- GLU-, SUC- или SOR-положительный, или
 - ARG- и OF/G-положительный, или
 - ARG положительна и CET положительна, или
 - LYS-положительный, или
 - ORN-положительный, или
 - OXI-отрицательный, OF/G-положительный, Fd₆₄-положительный и MAL-положительный.

Затем добавьте реагенты и считайте значения по остальным субстратам после 16–24 часов инкубирования. Если ни одно из приведенных выше условий не выполняется, инкубируйте планшеты повторно в течение 24 часов и только после этого добавьте реагенты и считайте данные по остальным субстратам.

- D. Если после повторного инкубирования микроорганизм все еще не дает реакции, проверьте наличие роста микроорганизма на углеводных субстратах в присутствии фенолового красного (особенно если в контрольной лунке роста с бульоном Мюллера — Хинтона рост слабый или отсутствует). При отсутствии роста на углеводных субстратах в присутствии фенолового красного следует заподозрить присутствие чувствительных к условиям питательной среды микроорганизмов, например, галофильных микроорганизмов вида *Vibrio*. Для подтверждения принадлежности микроорганизма к грамотрицательным бактериям следует повторить окраску по Граму.
- При подозрении на клинически значимое заболевание, вызванное галофильной бактерией вида *Vibrio*, тест следует провести повторно с суспендированием нескольких колоний в 3,0 мл стерильного 0,85% раствора хлорида натрия, а также выполнить дополнительное исследование, включая рост в солевой питательной среде, в соответствии с рекомендациями в программном обеспечении. Окончательная мутность должна соответствовать мутности стандарта 0,5 по Макфарланду. Эквивалентной мутности можно добиться при использовании турбидиметра MicroScan с диапазоном $0,08 \pm 0,02$. Регидратируйте планшеты, используя 25 мл воды для инокуляции с PLURONIC и систему RENOK. Стерильной пипеткой для переноса материала добавьте одну каплю (45–50 мкл) суспензии на основе солевого раствора в каждую лунку для идентификации, включая лунки роста, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ и Fd₆₄. Следует выполнить остальные этапы обработки планшетов.
- E. Перед считыванием результатов добавьте в лунки реагенты, как указано ниже.
- В лунку VP добавьте 1 каплю 40% раствора гидроксида калия (KOH) и 1 каплю 5% раствора альфа-нафтола. Подождите, по меньшей мере, 20 минут для развития реакции в лунке VP.
 - В лунку TDA добавьте 1 каплю 10% раствора хлорида железа. Окраска появится немедленно.
 - В лунку IND добавьте 3 капли реагента Ковача MicroScan. Окраска появится немедленно.
- ПРИМЕЧАНИЕ.** Реагент Ковача MicroScan имеет особый состав, разработанный специально для применения с анализаторами MicroScan. Если панели считываются вручную, необходимо добавлять только одну каплю.
- В лунку NIT добавьте 1 каплю 0,8% раствора сульфаниловой кислоты, а затем 1 каплю 0,5% раствора N, N-диметил-альфа-нафтиламина. Подождите не менее 5 минут до развития реакции в лунке NIT, после чего зарегистрируйте результат.
- F. Информация по интерпретации результатов биохимических реакций приводится в разделе «РЕЗУЛЬТАТЫ».

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Интерпретация результатов биохимических реакций

Лунка	Реагент	Положительный	Отрицательный
GLU		Только насыщенный желтый	От оранжевого до красного
Некоторые виды, не ферментирующие глюкозу, могут образовывать золотистое окрашивание, в этом случае результат следует считать отрицательным.			

Лунка	Реагент	Положительный	Отрицательный
SUC		От желтого до желто-оранжевого	От оранжевого до красного
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		От пурпурного до розового	Желтый, оранжевый или бледно-розовый
H ₂ S		Осадок или бляшка черного цвета	Отсутствие почернения
IND	Добавьте 3 капли (или одну каплю, если считывание планшета выполняется визуальным методом) реагента Ковача MicroScan. Окраска появляется немедленно.	От розового до красного	От бледно-желтого до оранжевого
Бактерии рода <i>Providencia</i> могут образовывать бледно-розовое кольцо, что должно считаться положительной реакцией.			
Сравните результаты, полученные в лунках LYS, ARG и ORN, с результатом в лунке DCB. Для того чтобы результаты могли считаться действительными, эти лунки должны быть покрыты маслом. Окрашивание в фиолетовый цвет считается положительным результатом при сравнении с серой лункой DCB. Окрашивание в серый цвет считается положительным результатом при сравнении с желтой лункой DCB. Для неферментирующих бактерий в лунках с положительным результатом должно наблюдаться значительно более насыщенное фиолетовое окрашивание, чем в контрольных лунках с базовой средой. Если контрольные лунки с базовой средой имеют фиолетовое окрашивание, произошло ощелачивание базовой среды, и результат в лунках LYS, ARG и ORN следует зарегистрировать как отрицательный. Такая реакция характерна для бактерий рода <i>Achromobacter</i> и <i>Ochrobactrum anthropi</i> .			
LYS		От фиолетового до серого	Ферментирующие микроорганизмы: Желтый
ARG			Неферментирующие бактерии:
ORN		Лиловый	От отсутствия окрашивания до серого
TDA	Добавьте 1 каплю 10% раствора хлорида железа (III). Окраска появляется немедленно.	Любой оттенок коричневого	От желтого до оранжевого
ESC		От светло-коричневого до черного	От бежевого до бесцветного
VP	Добавьте 1 каплю 40% раствора КОН и 1 каплю 5% раствора альфа-нафтола. Подождите, по меньшей мере, 20 минут для развития реакции.	Красный	Бесцветный
Некоторые неферментирующие бактерии могут давать бледно-розовый цвет после 18 часов инкубации, что должно считаться отрицательным результатом.			
ONPG		Желтый	Бесцветный
Сравните содержимое лунки ONPG с содержимым лунки с цетримидом, оно должно выглядеть таким же прозрачным. Если в лунке ONPG наблюдается малейшее желтое окрашивание по сравнению с лункой с цетримидом, зарегистрируйте как положительный результат.			
CIT		От синего до сине-зеленого	От зеленого до желтого
MAL		Любой оттенок синего считается положительным результатом	
TAR			
ACE			
CET		Рост	Отсутствие роста

Лунка	Реагент	Положительный	Отрицательный
OF/G		Желтый	При зеленом цвете контрольной лунки OF: От зеленого до синего
		От желтого до зеленого	При цвете контрольной лунки OF от синего до сине-зеленого: Синий
		Сравните лунку OF/G с контрольной лункой OF.	
NIT	Добавьте 1 каплю 0,8% раствора сульфаниловой кислоты и затем 1 каплю 0,5% раствора N,N-диметил-альфа-нафтиламина. Подождите, по меньшей мере, 5 минут для развития реакции.	Красный	От бесцветного до бледно-розового
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Рост (резистентность)	Отсутствие роста (чувствительность)
LOC	Только в случае считывания планшетов с использованием систем autoSCAN-4 и WalkAway.		

2. Принципы реакций идентификации

Брожение углевода (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): брожение определенных углеводов приводит к образованию кислоты и снижению pH, которое определяется с помощью индикатора фенолового красного.

Мочевина (URE): фермент уреазы расщепляет мочевину с образованием аммиака. Это приводит к повышению pH, что определяется с помощью индикатора фенолового красного.

Сероводород (H₂S): газообразный сероводород образуется из тиосульфата натрия и реагирует с ионами железа, присутствующими в среде, с образованием черного осадка.

Индол (IND): в результате метаболизма триптофана образуется индол, который обнаруживается при добавлении реагента Ковача. В присутствии индола образуется красное окрашивание.

Лизин, аргинин, орнитин (LYS, ARG, ORN): декарбоксилирование этих аминокислот приводит к образованию базовых аминов, которые определяются с помощью индикатора бромкрезолового фиолетового.

Триптофандеаминаза (TDA): бактерии, способные дезаминировать триптофан, образуют индолпириновинную кислоту, которая после добавления хлорида железа реагирует с цитратом железа-аммония в среде с образованием коричневого окрашивания.

Гидролиз эскулина (ESC): о гидролизе эскулина свидетельствует наличие цитрата железа-аммония в среде, которая вступает в реакцию с продуктами гидролиза с образованием черного осадка.

Фогес-Проскауэр (VP): ацетоин образуется из пирувата натрия и обнаруживается при появлении красного окрашивания после добавления раствора гидроксида калия 40%, а затем раствора альфа-нафтола 5%.

Галактозидаза (ONPG): β-галактозидаза гидролизует орто-нитрофенил-β-D-галактопиранозид с высвобождением орто-нитрофенола, имеющего желтый цвет.

Цитрат, малонат, ацетамид, тартрат (CIT, MAL, ACE, TAR): использование этих субстратов в качестве единственного источника углерода для метаболизма приводит к повышению pH, что определяется с помощью индикатора бромтимолового синего.

Окисление-брожение (OF/G): окисление глюкозы приводит к образованию кислоты и снижению pH, что определяется с помощью индикатора бромтимолового синего. Цвет содержимого лунки OF/G сравнивается с OF/B (базовая среда) на предмет образования кислоты.

Нитрат (NIT): способность микроорганизма восстанавливать нитрат в нитрит выявляется при добавлении N, N-диметил-альфа-нафтиламина и сульфаниловой кислоты, что в присутствии нитрита вызывает красное окрашивание.

Цетримид (CET): на устойчивость микроорганизмов к действию цетримиды указывает их рост в бульоне Мюллера-Хинтона, в который добавлен цетримид.

Пенициллин, канамицин, колистин, цефалотин, нитрофурантоин, тобрамицин (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): на устойчивость микроорганизмов к определенным концентрациям этих антибактериальных препаратов указывает их рост.

3. Идентификация микроорганизмов

Для идентификации неизвестных исследуемых микроорганизмов используют программу Biotype Lookup Program, которую можно найти в программе-администраторе LabPro и на веб-сайте компании Beckman Coulter. Программа выдает список идентификаций микроорганизмов с указанием относительных вероятностей, начиная с наиболее высокой; при этом совокупная вероятность составляет 99,9%.

При обнаружении номера биотипа, относящегося к категории «Очень редкий биотип», следует воспользоваться функциями программы LabPro (Utilities (Утилиты)>System (Система)>Biotype Lookup (Поиск биотипа)), программы Biotype Lookup Program на веб-сайте компании Beckman Coulter или обратиться к местному представителю или дистрибьютору компании Beckman Coulter.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. *Haemophilus* и другие прихотливые грамотрицательные бактерии не растут в бульоне Мюллера-Хинтона, не обогащенном ростовыми добавками.
2. Описанные в настоящем документе методики подходят только для факультативных анаэробных и аэробных грамотрицательных палочковидных бактерий.
3. Если точность идентификации является низкой (<85%), для окончательной идентификации могут потребоваться дополнительные тесты (см. программу MicroScan Biotype Lookup Program или 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. Органы здравоохранения должны уведомляться о выявлении изолятов, предположительно являющихся *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* или *F. tularensis*. Для точной идентификации изолятов этих бактерий может потребоваться специализированное исследование с возможностью выполнения только в справочных лабораториях или лабораториях системы общественного здравоохранения.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+

*American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
OF/B	Синий, сине-зеленый, зеленый	Синий, сине-зеленый	Синий, сине-зеленый, зеленый	Синий, сине-зеленый, зеленый
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	От серого до желтого	От серого до желто-серого	Желтый	Н/П
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Н/П
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	Н/П
To ₄ ²	-	-	-	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. *P. aeruginosa* ATCC 27853 может давать бледно-розовый цвет в лунке VP после инкубации в течение 18 часов, что должно интерпретироваться как отрицательный результат.

4. При инкубировании панелей в течение более чем 18 часов *E. coli* ATCC 25922 может давать слабую положительную реакцию.

5. Может потребоваться инкубация в течение 48 часов.

Н/П — неприменимо

ПРИМЕЧАНИЕ. Микроорганизмы для контроля качества выбираются для обеспечения положительных/отрицательных реакций для всех субстратов для идентификации. В результате этого идентификация микроорганизма может 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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Идентификация грамотрицательных микроорганизмов с помощью панелей с сухими средами — усовершенствованный метод идентификации с контролем качества ¹					
Микроорганизм контроля качества	Номер ATCC	Основной субстрат-индикатор	Ожидаемый результат	Результат вне спецификации	Неустойчивый субстрат
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Да
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Да

1. Основные индикаторы для контроля качества предоставлены для усовершенствованного метода контроля качества в соответствии с документом M50-A CLSI.⁴ 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.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Рабочие характеристики планшетов MicroScan с сухими средами для идентификации грамотрицательных микроорганизмов были установлены в ходе многоцентрового исследования. Клинические изоляты и исходные штаммы исследовались с использованием планшета ID типа 2 с сухими средами для грамотрицательных микроорганизмов, а также с использованием стандартных методик с культивированием в пробирках для моделирования популяции бактерий, ожидаемой в стандартной клинической лаборатории. Полный перечень микроорганизмов, включенных в базу данных, см. в разделе «Планшеты с сухими (традиционными) средами для грамотрицательных аэробных палочковидных бактерий» Справочного руководства по микробиологическим исследованиям.

Процентное совпадение с эталонным методом

Кол-во исследованных	Количество правильных идентификаций	% правильных идентификаций
609	593	97,4

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

Воспроизводимость устанавливается путем тестирования нескольких повторений в разных условиях (например, разных партий панели, в разные дни, с использованием разных приборов, разными пользователями). К ним могут относиться штаммы для контроля качества, клинические изоляты или оба варианта. Общее соответствие составило $\geq 95\%$.

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.

УВЕДОМЛЕНИЕ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

О любом серьезном инциденте, произошедшем в отношении панелей MicroScan, следует сообщить Beckman Coulter и компетентному органу государства-члена, в котором находятся пользователь и/или пациент.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ	ДАТА	ОПИСАНИЕ
AA	Май 2022 г.	Первоначальный выпуск
AB	Декабрь 2022 г.	Обновлено: Воспроизводимость

Определения символов

Следующие символы могут использоваться для маркировки продуктов микробиологического направления Beckman Coulter.

Определения символов			
Символ	Название символа	Описание стандарта	Стандарт
	Запрет на повторное применение	Обозначает медицинское изделие, предназначенное для однократного применения или для применения одним пациентом в ходе одной процедуры.	ISO 15223-1, пункт 5.4.2
	Срок годности	Обозначает дату, после наступления которой не следует использовать данное медицинское изделие.	ISO 15223-1, пункт 5.1.4
	Код партии	Обозначает код серии производителя, позволяющий идентифицировать серию или партию.	ISO 15223-1, пункт 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/EEC, 93/42/EEC и 98/79/EC.	ISO 15223-1, пункт 5.1.1
	Дата производства	Обозначает дату изготовления медицинского изделия.	ISO 15223-1, пункт 5.1.3
	Уполномоченный представитель в Европейском сообществе	Обозначает уполномоченного представителя в странах Европейского сообщества.	ISO 15223-1, пункт 5.1.2
	Содержимое рассчитано на <n> тестов	Обозначает общее количество IVD (диагностических тестов <i>in vitro</i>), которые можно выполнить с помощью медицинского изделия для IVD (диагностики <i>in vitro</i>). (Стандартное количество для набора реагентов).	ISO 15223-1, пункт 5.5.5
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>	Обозначает медицинское изделие, предназначенное для использования при диагностике <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, пункт 5.5.1
	Температурные ограничения	Обозначает предельные температуры, не оказывающие опасного воздействия на медицинское изделие.	ISO 15223-1, пункт 5.3.7

Определения символов			
Символ	Название символа	Описание стандарта	Стандарт
	Обратитесь к Инструкции по применению	Обозначает, что пользователь должен ознакомиться с инструкциями по применению.	ISO 15223-1, пункт 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, пункт 5.3.1
	Этой стороной вверх	Указывает правильное вертикальное положение	ISO 7000: 0623
	Информация только для США	Обозначает информацию, которая требуется только для продуктов, предназначенных для продажи в США.	неприменимо
	Только для использования по назначению врача	Признается Управлением по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами (FDA) США как альтернатива сообщению «Внимание! Согласно федеральному законодательству США, продажа данного изделия может осуществляться только сертифицированным практикующим специалистом или по его распоряжению»	Раздел 21 Свода федеральных нормативных актов (CFR) 801.109(b)(1)
	Биологические риски	Указывает, что существуют потенциальные биологические риски, связанные с медицинским изделием. Примечание. Не следует путать этот символ с символом биологической опасности, который наносится на рабочем месте.	ISO 15223-1, пункт 5.4.1
	Опасно!	неприменимо	неприменимо
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, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

MicroScan

Priručnik za postupak za identifikaciju gram-negativnih organizama tipa 2, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

NAMJENA

Panel MicroScan tipa 2 za identifikaciju gram-negativnih bakterija jest *in vitro* dijagnostički medicinski proizvod namijenjen za kvalitativnu identifikaciju na razini vrste brzorastućih aerobnih i fakultativno anaerobnih gram-negativnih bacila iz izoliranih kolonija. Metode inkubacije i određivanja rezultata obuhvaćaju potpunu automatizaciju pomoću instrumenata WalkAway ili neautomatiziranu inkubaciju izvan sustava te očitavanje pomoću instrumenata autoSCAN-4 ili ručno očitavanje uz mogućnost unosa rezultata u sustav za upravljanje podacima LabPro.

CILJNI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

SAŽETAK I NAČELA

Nakon inokulacije i rehidratizacije panela standardiziranom suspenzijom organizma oni se inkubiraju minimalno 16 sati na temperaturi od 35 °C. Za identifikaciju fermentativnih i nefermentativnih gram-negativnih bacila koriste se modificirani konvencionalni i kromogeni testovi. Identifikacija se temelji na detekciji promjena pH vrijednosti, korištenju supstrata i rastu u prisutnosti antimikrobnih agensa nakon 16 – 42 sata inkubacije na temperaturi od 35 °C.¹

Panel tipa 2 za identifikaciju gram-negativnih bakterija			
Supstrati	Kratica	Supstrati	Kratica
Glukoza	GLU	Voges-Proskauer	VP
Saharoza	SUC	Citrat	CIT
Sorbitol	SOR	Malonat	MAL
Rafinoza	RAF	o-nitrofenil-beta-D-galaktopiranozid	ONPG
Ramnoza	RHA	Tartrat	TAR
Arabinoza	ARA	Acetamid	ACE
Inozitol	INO	Cetrimid	CET
Adonitol	ADO	OF glukoze	OF/G
Melibioza	MEL	Baza OF	OF/B
urea	URE	Baze dekarboksilaze	DCB
Hidrogenov sulfid	H ₂ S	Nitrat	NIT
Indol	IND	Penicilin G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lizin	LYS	Kanamicin 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginin	ARG	Kolistin 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornitin	ORN	Nitrofurantoin 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Triptofan deaminaza	TDA	Cefalotin 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Eskulin	ESC	Tobramicin 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Antimikrobni agensi koja služe za identifikaciju.

KLINIČKA RELEVANTNOST

Rezultati testa za identifikaciju koriste se u kombinaciji s drugim laboratorijskim rezultatima i kliničkim pokazateljima radi preciznije terapije u simptomatskih pacijenata.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Koristi se samo za *in vitro* dijagnostiku.
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. Isključivo za jednokratnu upotrebu. Nijedan panel ni potrošni materijal MicroScan ne smije se ponovno upotrebljavati, osim ako je drukčije navedeno (npr. pločice za prekrivanje).
6. Proizvod sadrži materijal(e) životinjskog podrijetla iz dehidriranog mikrobiološkog medija. Prilikom rukovanja proizvodom pridržavajte se općenitih sigurnosnih smjernica.

POHRANA

Paneli osušenih gram-negativnih bakterija moraju se čuvati na temperaturi od 2 – 25 °C.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

DOKAZ PROPADANJA

Produljeno izlaganje uvjetima skladištenja drukčijima od preporučenih može dovesti do hidrolize supstrata za identifikaciju. Nemojte koristiti nakon isteka roka valjanosti. Za dodatnu pomoć obratite se predstavniku ili distributeru tvrtke Beckman Coulter.

PRIKUPLJANJE I PRIPREMA UZORAKA

Odgovarajuće uzorke treba prikupiti, transportirati i smjestiti na medij za primarnu izolaciju u skladu s postupcima preporučenima u *Priručniku za kliničku mikrobiologiju*.²

DOSTAVLJENI MATERIJALI

Tip 2 za identifikaciju gram-negativnih bakterija (B1017-27)

Priručnik za postupak i kontrolu kvalitete

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU ISPORUČENI

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

10-postotni feriklorid, 30 mL (B1010-48A) ili 250 mL (B1015-48)

0,5-postotni N, N-dimetil-alfa-naftilamin, 30 mL (B1010-45A) ili 250 mL (B1015-45)

40-postotni kalijev hidroksid, 30 mL (B1010-43A) ili 250 mL (B1015-43)

0,8-postotna sulfanilna kiselina, 30 mL (B1010-44A) ili 250 mL (B1015-44)

0,5 po McFarlandovom standardu zamućenosti

Pipeta 100 µL

Papir s naljepnicom s barkodom (B1018-129)

Pločice za prekrivanje (B1010-56B)

Opća laboratorijska oprema

Kovacev reagens, 30 mL (B1010-41A) ili 250 mL (B1015-41)

Ručni radni listovi za panel (koji služe za bilježenje ručno očitanih rezultata)

Preglednik za mikrodiluciju

Mineralno ulje, 60 mL (B1010-40)

Mineralno ulje, 250 mL (B1010-40A)

Reagens za oksidazu

Organizmi za kontrolu kvalitete (pogledajte odjeljak Kontrola kvalitete u ovom priručniku)

Obrasci za izvješćivanje o kontroli kvalitete

Komplet za ispuštanje reagensa (B1013-12A)

RENOK – rehidrator/inokulator (B1018-14) ili njegov ekvivalent

Mjerač zamućenosti

Vorteks

MATERIJALI ZA JEDNOKRATNU UPOTREBU

0,85-postotna autoklavirana fiziološka otopina, 3 mL

Sterilni nastavci pipete za jednokratnu upotrebu

Komplet inokulatora-D (B1013-4)

Voda za inokulum, 3 mL (B1015-2)

Voda za inokulum s PLURONIC®-om, 25 mL (B1015-7)*

Sustav za inokulaciju Prompt® (B1026-10D)**

Trake za brtvljenje (B1010-51)

*PLURONIC® surfaktanti. Registrirani žig tvrtke BASF Corporation, Parsippany, NJ USA.

**3M, St. Paul, MN USA

POSTUPAK

Priprema panela

1. Panele koje ćete koristiti izvadite iz mjesta na kojem ih čuvate. Nemojte ih koristiti ako je pakovanje oštećeno (nije tvornički zatvoreno, probušeno je ili potrgano).
2. Razrežite vrećicu i izvadite panel. Ako ste ga čuvali u hladnjaku, odmah izvadite panel iz vrećice od folije.
3. **Paneli se ne smiju koristiti ako je došlo do bilo čega od sljedećeg:**
 - A. Desikanta nema ili je oštećen.
 - B. Jažice panela promijenile su boju (npr. DCB, razna antimikrobna sredstva)
4. 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.

Priprema inokuluma

CLSI preporučuje redovitu provjeru gustoće inokuluma prebrojavanjem kolonija. Preporuke za prebrojavanje kolonija potražite u CLSI-jevu dokumentu M07, 11. izdanje. Očekivani rezultat za *E. coli* ATCC 25922 trebao bi biti oko 5×10^5 CFU/mL uz vrlo malo odstupanje za konačne koncentracije testa.³ Korisnik mora vrlo pažljivo pripremati inokulum, osobito kada koristi ručne metode koje ovise o tehnici, kao što su sustav Prompt ili priprema inokuluma bez fotometrijskog uređaja.

1. Tehnika sa standardom zamućenosti – metoda primarne inokulacije

Za izravnu inokulaciju svih aerobnih gram-negativnih bacila 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.
- B. Emulgirajte u 3 mL vode za inokulum (autoklavirane deionizirane vode).
- C. Čvrsto zatvorite i miješajte suspenziju 2 – 3 sekunde.
- D. 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 $0,08 \pm 0,02$.
- E. 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 koristiti za inokulaciju gram-negativnih bacila. 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 podložnost i identifikaciju.

Test na oksidazu

Prije inokulacije panela provedite testiranje na oksidazu. Rezultate zabilježite na odgovarajućem mjestu na radnom listu ili na način koji propisuje instrument. Rezultati oksidaze omogućuju taksonomsko razdvajanje i ranu prijavu nefermentora (npr. kompleks *Acinetobacter baumannii*). Za sustave WalkAway preporučuje se unos rezultata oksidaze prije ispisivanja barkodova. Neki nefermentori mogu se održati do 42 sata, ovisno o rastu. Preporučeni je reagens za oksidazu tetrametil-p-fenilen-diamin-dihidroklorid.

Rehidracija/inokulacija panela

Rehidracija i inokulacija izvode se pomoću sustava RENOK s inokulatorima D (B1013-4). Pročitajte RENOK Operator's Manual for use (Korisnički priručnik za operatore sustava RENOK). Ako koristite neki drugi sustav, rehidrirajte sa $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ vode za inokulum sa sredstvom PLURONIC. Trebate 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. Pomoću bočice za ispuštanje premažite GLU, URE, H_2S , LYS, ARG, ORN i DCB trima kapima 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: sustavi WalkAway (i sustavi WalkAway nadograđeni značajkom automatiziranog prekrivanja uljem) automatski dodaju ulje u odgovarajuće jažice.

Traka za brtvljenje

Samo u slučaju gram-negativnih organizama pozitivnih na oksidazu postavite traku za brtvljenje preko jažica u kojima je CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B i DCB. Četvrtinčni otvor za lociranje na traci treba biti poravnat s jažicom s DCB-om. Prilikom korištenja sustava WalkAway umjesto trake za brtvljenje treba koristiti poklopac.

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 sapunom i vodom. Dobro ih isperite i pustite da se osuše na zraku.
 - C. Inkubirajte panele najmanje 16 sati pri temperaturi od 35 °C u inkubatoru u kojem se ne koristi CO₂.

Očitavanje panela

Paneli se mogu očitati ručno, a rezultati zabilježiti na radnom listu Manual Panel Worksheet (Radni list za ručni panel) ili instrumentima MicroScan (sustavima autoSCAN-4 i WalkAway). Za očitavanje panela pomoću instrumenata MicroScan pogledajte priručnik za operatore sustava.

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 jasna, a jažica za rast zamućena. Ne očitavajte panel ako je kontrolna jažica zamućena ili ako u jažici za rast nema rasta. Zamućenje može poprimiti oblik bijele pjenice u cijeloj jažici, oblik kruga u sredini jažice ili oblik sitnog granularnog rasta u cijeloj jažici. Neadekvatan rast ili odsutnost rasta definiraju 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. Sve identifikacijske supstrate očitavajte ispred bijele pozadine, osim CET-a i antimikrobnih agensa koji se koriste za identifikaciju (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), a koji se trebaju očitavati ispred crne (neizravno osvijetljene) pozadine.
 - B. Ovi se supstrati uvijek očitavaju nakon 16 – 24 sata: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
 - C. Ako vrijedi bilo koja od sljedećih tvrdnji:
 - a. GLU ili SUC ili SOR pozitivno ili
 - b. ARG pozitivno i OF/G pozitivno ili
 - c. ARG pozitivno i CET pozitivno ili
 - d. LYS pozitivno ili
 - e. ORN pozitivno ili
 - f. OXI negativno i OF/G pozitivno te Fd₆₄ pozitivno i MAL pozitivno.

Potom dodajte reagense i očitajte preostale supstrate nakon 16 – 24 sati inkubacije. Ako nijedan od gore navedenih uvjeta nije zadovoljen, ponovno inkubirajte panele dodatna 24 sata prije dodavanja reagensa i očitavanja preostalih supstrata.

- D. Ako nakon reinkubacije izgleda da organizam i dalje ne reagira, provjerite je li organizam narastao u ugljikohidratima fenolnog crvenila (osobito ako je rast slab ili ga nema u Mueller-Hintonovoj kontroli rasta). Ako nema rasta u ugljikohidratima fenolnog crvenila, treba posumnjati na osjetljive organizme poput halofilne vrste *Vibrio*. Treba ponoviti bojenje po Gramu da bi se potvrdilo da je gram-negativna.
 - a. Ako postoji sumnja na klinički važnu bolest uzrokovanu halofilnom vrstom *Vibrio*, ponovite testiranje emulgiranjem nekoliko kolonija u 3,0 mL sterilne 0,85-postotne fiziološke otopine te provedite dodatno testiranje koje obuhvaća rast u soli, kao što program preporučuje. Konačna zamućenost trebala bi biti ekvivalentna vrijednosti 0,5 po McFarlandovom standardu zamućenosti. Ekvivalentna zamućenost može se postići primjenom mjerača zamućenosti MicroScan s rasponom od 0,08 ± 0,02. Rehidrirajte panel s 25 mL neinokulirane vode za inkulum s PLURONIC-om koristeći RENOK. Koristeći sterilnu pipetu za prijenos dodajte jednu kap (45 – 50 µL) suspenzije fiziološke otopine u svaku identifikacijsku jažicu, uključujući i jažice za rast koje sadrže Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ i Fd₆₄. Pridržavajte se svih ostalih koraka za obradu panela.
- E. Prije očitavanja dodajte ove reagense:

- Dodajte jednu kap 40-postotnog kalijevog hidroksida (KOH) i jednu kap 5-postotnog alfa-naftola u jažicu s VP-om. Pričekajte barem 20 min da se razvije VP reakcija.
 - Dodajte jednu kap 10-postotnog feriklorida u jažicu s TDA-om. Boja će se odmah pojaviti.
 - Dodajte 3 kapi Kovaceva reagensa MicroScan u jažicu s IND-om. Boja će se odmah pojaviti.
- NAPOMENA:** Kovačev reagens MicroScan posebna je formula dizajnirana za upotrebu s instrumentima MicroScan. Ako se paneli očitavaju ručno, treba koristiti samo jednu kap.
- Dodajte jednu kap 0,8-postotne sulfanilne kiseline i jednu kap 0,5-postotnog N, N-dimetil-alfa-naftilamina u NIT jažicu. Prije očitavanja pričekajte barem 5 min da se razvije NIT reakcija.

F. Za pomoć pri biokemijskom tumačenju pogledajte odjeljak REZULTATI.

REZULTATI

1. Biokemijska tumačenja

Jažica	Reagens	Pozitivno	Negativno
GLU		Samo jako žuto	Od narančastog do crvenog
		Neki nefermentori mogu proizvesti zlatnu boju koju treba smatrati negativnim rezultatom.	
SUC		Od žutog do žuto-narančastog	Od narančastog do crvenog
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Od purpurno crvenog do ružičastog	Žuto, narančasto ili blijedoružičasto
H ₂ S		Crni precipitat ili crni krug	Bez zacrnjenja
IND	Dodajte 3 kapi (ili jednu kap ako se panel očitava vizualno) Kovaceva reagensa MicroScan. Boja se odmah pojavljuje.	Od ružičastog do crvenog	Od blijedožutog do narančastog
		Providencia sp. može proizvesti blijedi ružičasti prsten, koji treba smatrati pozitivnim rezultatom.	
Usporedite LYS, ARG i ORN s DCB-om. Da bi rezultati bili valjani, te jažice moraju biti premazane uljem. Ljubičasto se smatra pozitivnim kada se uspoređuje sa sivom jažicom s DCB-om. Sivo se smatra pozitivnim kada se uspoređuje sa žutom jažicom s DCB-om. Za nefermentore pozitivan test mora biti znatno izraženije ljubičast od bazne kontrole. Ako je bazna kontrola ljubičasta, bazni je medij alkalizirao te LYS, ARG i ORN treba zabilježiti kao negativne. To se često događa s vrstama <i>Achromobacter</i> i <i>Ochrobactrum anthropi</i> .			
LYS		Od ljubičastog do sivog	Fermentori: Žuta
ARG			Nefermentori:
ORN		Ljubičasta	Od bezbojnog do sivog
TDA	Dodajte jednu kap 10-postotnog feriklorida. Boja se odmah pojavljuje.	Bilo koja smeđa nijansa	Od žutog do narančastog
ESC		Od svijetlosmeđeg do crnog	Od bež do bezbojnog
VP	Dodajte jednu kap 40-postotnog KOH i jednu kap 5-postotnog alfa-naftola. Pričekajte barem 20 min da se reakcija razvije.	Crvena	Bez boje
		Neki nefermentori nakon 18 sati inkubacije mogu proizvesti blijedoružičastu boju koju treba smatrati negativnim rezultatom.	
ONPG		Žuta	Bez boje
		Bilo koju jažicu s ONPG-om koja izgleda prozirno usporedite s jažicom s cetrimidom. Ako se u odnosu na jažicu s cetrimidom ONPG doima imalo žućkasto, zabilježite kao pozitivan rezultat.	

Jažica	Reagens	Pozitivno	Negativno
CIT		Od plavog do plavozelenog	Od zelenog do žutog
MAL		Bilo koja plava nijansa smatra se pozitivnim rezultatom	
TAR			
ACE			
CET		Rast	Nema rasta
OF/G		Žuta	Ako je baza OF zelena: Od zelenog do plavog Ako je baza OF plava do plavozelena: Plava
		Od žutog do zelenog	
		Usporedite jažicu OF/G s kontrolom baze OF.	
NIT	Dodajte jednu kap 0,8-postotne sulfanilne kiseline i jednu kap 0,5-postotnog N, N-dimetil-alfa-naftilamina. Pričekajte barem 5 min da se reakcija razvije.	Crvena	Od bezbojnog do blijedoružičastog
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Rast (otporno)	Nema rasta (podložno)
LOC	Samo za raspoznavanje panela sustava autoSCAN-4 i WalkAway.		

2. Načela reakcija identifikacija

Fermentacija ugljikohidrata (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): fermentacija konkretnih ugljikohidrata dovodi do stvaranja kiseline, a pad pH vrijednosti detektira crveni indikator fenola.

Urea (URE): enzim ureaza dijeli ureju koji stvara amonijak. Posljedično povišenje pH vrijednosti otkriva crveni indikator fenola.

Hidrogenov sulfid (H₂S): plin hidrogenova sulfida proizvodi se iz natrijeva tiosulfata te reagira s željezovim ionima u mediju stvarajući crni talog.

Indol (IND): metabolizam triptofana dovodi do stvaranja indola, što se detektira Kovačevim reagensom. U prisutnosti indola razvija se crvena boja.

Lizin, arginin, ornitin (LYS, ARG, ORN): dekarboksilacija tih aminokiselina dovodi do stvaranja osnovnih amina koje je otkrio ljubičasti indikator bromkresola.

Triptofan deaminaza (TDA): bakterije sposobne za deaminaciju triptofana proizvode indolil piruvičnu kiselinu, koja nakon dodavanja željezova klorida u mediju reagira s citratom željezova amonija te daje smeđu boju.

Hidroliza eskulina (ESC): hidroliza eskulina detektira se u mediju pomoću citrata željezova amonija, koji reagira s produktima hidrolize i tvori crni talog.

Voges-Proskauer (VP): acetoin se proizvodi iz natrijeva piruvata, a pokazuje ga stvaranje crvene boje nakon dodavanja 40-postotnog kalijeva hidroksida i 5-postotnog alfa-naftola.

Galaktosidaza (ONPG): beta-galaktosidaza hidrolizira orto-nitrofenil-beta-D-galaktopiranozid, što oslobađa žuto obojeno ortonitrofenol.

Citrat, malonat, acetamid, tartrat (CIT, MAL, ACE, TAR): korištenje tih supstrata kao jedinog izvora ugljika za metabolizam dovodi do porasta pH vrijednosti koji detektira plavi indikator bromtimola.

Oksidacija-fermentacija (OF/G): oksidacija glukoze dovodi do stvaranja kiseline, a pad pH vrijednosti detektira plavi indikator bromtimola. OF/G se uspoređuje s OF/B (bazom) da bi se odredilo je li proizvedena kakva kiselina.

Nitrat (NIT): sposobnost organizma za redukciju nitrata u nitrite otkriva dodatak N,N-dimetil-alfa-naftilamina i sulfanilične kiseline, što u prisutnosti nitrata daje crvenu boju.

Cetrimid (CET): toleranciju na cetrimid pokazuje rast Mueller-Hintonova bujona s dodatkom cetrimida.

Penicilin, kanamicin, kolistin, cefalotin, nitrofurantoin, tobramicin (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): rezistencija na određene koncentracije tih antimikrobnih agensa iskazuje se u rastu.

3. Identifikacija organizama

Biotype Lookup Program u sklopu Upravitelja informacija za LabPro i na web-mjestu tvrtke Beckman Coulter koristi se za identifikaciju nepoznatih testiranih organizama. U programu se navode identifikacija organizma i relativne vjerojatnosti, poredane od najveće prema najmanjoj i do kumulativne vjerojatnosti od 99,9 %.

Ako se pojavi broj biotipa označen kao „Vrlo rijedak biotip”, pogledajte softver LabPro (Utilities (Uslužni alati)>System (Sustav)>Biotype Lookup (Traženje biotipa)), Biotype Lookup Program (Program za traženje biotipa) na web-mjestu tvrtke Beckman Coulter ili se pak obratite predstavniku ili distributeru tvrtke Beckman Coulter.

OGRANIČENJE POSTUPKA

1. *Haemophilus* i druge osjetljive gram-negativne bakterije neće rasti u Mueller-Hintonovu bujonu koji nije obogaćen dodacima za pospešivanje rasta.
2. Ovdje opisani postupci prikladni su samo za opcionalne anaerobne te za aerobne gram-negativne bacile.
3. Možda će biti potrebni dodatni testovi radi konačne nepobitne identifikacije u slučaju kada dođe do identifikacije s malom vjerojatnošću (<85 %) (pogledajte MicroScan Biotype Lookup Program ili Mikrobiološki priručnik).
4. Tumačenje rezultata testa mora provoditi obučeno kliničko osoblje koje će koristiti vlastitu prosudbu, znanje, a po potrebi i dodatne potvrdne testove 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. O svim izolatima preliminarno identificiranim kao *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* ili *F. tularensis* treba obavijestiti nadležna javnozdravstvena tijela. Za potvrdu izolata navedenih bakterija može biti potrebno specijalizirano testiranje dostupno samo u referentnim ili javnozdravstvenim laboratorijima.

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).*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Plavo, plavozeleno, zeleno	Plavo, plavozeleno	Plavo, plavozeleno, zeleno	Plavo, plavozeleno, zeleno
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Sivo do žuto	Sivo do žutosivo	Žuta	Nije primjenjivo
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Nije primjenjivo

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	Nije primjenjivo
To ₄ ²	-	-	-	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. *P. aeruginosa* ATCC 27853 nakon 18 sati može proizvesti blijedoružičastu boju u VP-u inkubacije, što valja tumačiti kao negativan rezultat.

4. S organizmom *E. coli* ATCC 25922 moguće je postići slabu pozitivnu reakciju ako se paneli inkubiraju dulje od 18 sati.

5. Može biti potrebna 48-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 u dijagramu kontrole kvalitete. Prihvatljivost performansi proizvoda potrebno je utvrditi usporedbom rezultata testa, a ne identifikacijom.

Dodatni stol za testiranje

Organizam	Supstrat	Očekivani rezultat
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Identifikacija osušenih gram-negativnih bakterija – pojednostavnjena kontrola kvalitete identifikacije ¹					
Organizam za kontrolu kvalitete	ATCC broj	Supstrat ključnog indikatora	Očekivani rezultat	Rezultat izvan specifikacija	Labilni supstrat
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	da
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	da

1. Ključni indikatori za kontrolu kvalitete dostupni su za pojednostavnjenu kontrolu kvalitete u skladu CLSI-jevim dokumentom M50-A.⁴ Prije implementacije programa pojednostavnjene kontrole kvalitete pogledajte pojedinosti u dokumentu M50-A te se obratite odgovarajućim regulatornim tijelima i inspekcijskim skupinama radi potvrđivanja prihvatljivosti.

RADNE ZNAČAJKE

Tvrđnje o performansama identifikacijskog panela osušenih gram-negativnih bakterija MicroScan temelje se na multicentričnom ispitivanju. Klinički izolati i gotovi sojevi testirani su na panelu tipa 2 ID-a osušenih negativnih bakterija i konvencionalnim cijevnim metodologijama kako bi se reprezentirala bakterijska populacija očekivana u uobičajenom kliničkom laboratoriju. Cjelovit popis organizama obuhvaćenih bazom podataka potražite u odjeljku o (konvencionalnim) panelima osušenih gram-negativnih bakterija i gram-negativnim aerobnim bacilima u sklopu priručnika Microbiology Information Manual (Mikrobiološki informativni priručnik).

Postotna sukladnost s referentnom metodom

Broj testiranih	Broj točne identifikacije	% točne identifikacije
609	593	97,4

OBNOVLJIVOST

Reproducibilnost se utvrđuje testiranjem više replikata u različitim uvjetima (npr. serije panela, dani, instrumenti, korisnici). To može obuhvaćati sojeve kontrole kvalitete, kliničke izolate ili oboje. Opća je sukladnost bila ≥ 95 %.

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.

OBAVIJEST KORISNIKU

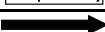
Svaki ozbiljan incident povezan s panelima MicroScan mora se prijaviti tvrtki Beckman Coulter i nadležnom tijelu države članice u kojoj korisnik i/ili pacijent imaju sjedište odnosno prebivalište.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA	DATUM	OPIS
AA	Svibanj 2022.	Početno izdanje
AB	Prosinac 2022.	Ažurirano: Reproducibilnost

Pojmovnik simbola

Na naljepnicama na mikrobiološkim proizvodima tvrtke Beckman Coulter mogu se nalaziti sljedeći simboli.

Pojmovnik 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, članak 5.4.2
	Rok upotrebe	Označava datum nakon kojeg se medicinski proizvod više ne smije koristiti.	ISO 15223-1, članak 5.1.4
	Šifra serije	Označava proizvođačevu šifru serije radi prepoznavanja serije ili šarže.	ISO 15223-1, članak 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, članak 5.1.3
	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 <i>in vitro</i> dijagnostičkih (IVD) testova koje je moguće provesti pomoću proizvoda za <i>in vitro</i> dijagnostiku. (Obično se nalazi na kompletima reagensa.)	ISO 15223-1, članak 5.5.5
	Medicinski proizvod za <i>in vitro</i> dijagnostiku	Označava medicinski proizvod koji je namijenjen za upotrebu kao medicinski proizvod za <i>in vitro</i> dijagnostiku.	ISO 15223-1, članak 5.5.1
	Ograničenje temperature	Naznačuje granične temperature kojima je moguće bez opasnosti izlagati medicinski proizvod.	ISO 15223-1, članak 5.3.7
	Pročitajte upute za uporabu	Označava da korisnik treba pročitati upute za uporabu.	ISO 15223-1, članak 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, članak 5.3.1
	Ovu stranu okrenite prema gore	Označava pravilan uspravan položaj	ISO 7000: 0623
	Informacije samo za SAD	Informacije obavezne samo za proizvode namijenjene američkom tržištu.	nije primjenjivo
	Upotreba samo na recept	Američka Agencija za hranu i lijekove taj natpis smatra zamjenom za izjavu: „Oprez: prema saveznom zakonu SAD-a prodaja ovog uređaja dopuštena je samo licenciranim liječnicima ili uz njihov nalog”	21CFR 801.109(b)(1)

Pojmovnik simbola			
Simbol	Naziv simbola	Opis standarda	Standard
	Biološki rizici	Označava moguću prisutnost bioloških rizika povezanih s medicinskim proizvodom. Napomena: ovaj se simbol ne smije zamijeniti sa znakom „biološka opasnost“ koji je namijenjen za uporabu na radnom mjestu.	ISO 15223-1, članak 5.4.1
	Opasnost	nije primjenjivo	nije primjenjivo
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 žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

MicroScan

Процедурно ръководство за грам-отрицателна идентификация 2, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Панелът за идентификация на отрицателни резултати от тип 2 MicroScan е медицинско изделие за *in vitro* диагностика, предназначено за качествено определяне на идентификация на ниво видове на аеробни и факултативно анаеробни грам-отрицателни бацили от изолирани колонии. Методите за инкубиране и определяне на резултати включват пълна автоматизация с инструменти WalkAway или неавтоматизирано офлайн инкубиране с отчитане на инструменти autoSCAN-4 или с ръчно отчитане с възможност за въвеждане на резултати в системата за управление на данни LabPro.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

ОБООБЩЕНИЕ И ПРИНЦИП

След като панелите се инокулират и рехидратират със стандартизирана суспензия от организми, те се инкубират за минимум 16 часа при температура 35°C. За идентификация на ферментиращи и неферментиращи грам-отрицателни бацили се използват модифицирани традиционни и хромогенни тестове. Идентификацията се основава на откриване на промени в pH, използване на субстрат и растеж в присъствието на антимикробни агенти след инкубация в продължение на 16–42 часа при температура 35°C.¹

Панел за идентификация на отрицателни резултати, тип 2			
Субстрати	Съкр.	Субстрати	Съкр.
Глюкоза	GLU	Фогес-Проскауер	VP
Захароза	SUC	Цитрат	CIT
Сорбитол	SOR	Малонат	MAL
Рафиноза	RAF	о-нитрофенил-β-D-галактопиранозид	ONPG
Рамноза	RHA	Тартрат	TAR
Арабиноза	ARA	Ацетамид	ACE
Инозитол	INO	Цетримид	CET
Адонитол	ADO	Глюкоза OF	OF/G
Мелибиоза	MEL	Основа OF	OF/B
Урея	URE	Декарбоксилазна база	DCB
Сероводород	H ₂ S	Нитрат	NIT
Индол	IND	Пеницилин G 4 µg/mL ¹	P ₄
Лизин	LYS	Канамицин 4 µg/mL ¹	K ₄
Аргинин	ARG	Колистин 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Орнитин	ORN	Нитрофурантоин 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Триптофан деаминаза	TDA	Цефалотин 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Ескулин	ESC	Тобрамицин 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Антимикробни средства, използвани за идентификация.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

Резултатите от тестовете за идентифициране се използват заедно с други лабораторни резултати и клинични индикатори за прецизиране на лечението при симптоматични пациенти.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Само за *in vitro* диагностика.
2. Съблюдавайте асептични техники и установените предпазни мерки срещу микробиологични опасности по време на всички процедури, като обърнете специално внимание, че инокулираните панели е възможно да съдържат патогенни организми.
3. Този материал съдържа инфекциозни агенти и трябва да бъде изхвърлян по подходящ за биологично опасни отпадъци начин.
4. Резултатите от този тест трябва винаги да бъдат интерпретирани във връзка с анамнезата на пациента, клиничната картина и други находки.
5. Само за еднократна употреба. Всички панели MicroScan и консумативите не трябва да се използват повторно, освен ако не е посочена друго (напр. покривни поставки).
6. Този продукт съдържа материал(и) от животински произход от дехидратирана микробиологична среда. Съблюдавайте основните указания за безопасност с цел защита при работа с продукта.

СЪХРАНЕНИЕ

Изушените грам-отрицателни панели трябва да бъдат съхранявани при температури 2–25°C.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен



Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

ДАНИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Продължително излагане при условия на съхранение, различни от препоръчаните, може да доведе до хидролиза на идентификационни субстрати. Не използвайте продукта след изтичане на срока на годност. Свържете се с Вашия представител на Beckman Coulter или с дистрибутора за допълнителна помощ.

ВЗИМАНЕ И ПОДГОТОВКА НА ОБРАЗЕЦ

Подходящи образци трябва да бъдат събирани, транспортирани и поставени върху първична изолационна среда в съответствие с процедурите, препоръчани в *Manual of Clinical Microbiology* (Ръководството по клинична микробиология).²

ПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ

Идентификация на отрицателни резултати, тип 2 (B1017-27)

Ръководство за процедури и контрол на качеството

НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ

5 % алфа нафтол, 30 mL (B1010-42A)

10 % железен хлорид, 30 mL (B1010-48A) или 250 mL (B1015-48)

0,5 % N, N-диметил-алфа-нафтиламин, 30 mL (B1010-45A) или 250 mL (B1015-45)

40 % калиев хидроксид, 30 mL (B1010-43A) или 250 mL (B1015-43)

0,8 % сулфанилова киселина, 30 mL (B1010-44A) или 250 mL (B1015-44)

Стандарт за мътност 0,5 McFarland

100 µL пипетор

Хартиен етикет с баркод (B1018-129)

Поставки с капак (B1010-56B)

Общо лабораторно оборудване

Реактив на Ковач, 30 mL (B1010-41A) или 250 mL (B1015-41)

Работни журнaли за ръчни панели (използват се за регистриране на ръчно отчетени резултати)

Визуализатор за микроразтвори

Минерално масло, 60 mL (B1010-40)

Минерално масло, 250 mL (B1010-40A)

Реактив за оксидаза

Организми за качествен контрол (Вижте раздела „Качествен контрол“ на това ръководство)

Отчетни формуляри за контрол на качеството

Комплект с дозатор за реактив (B1013-12A)

RENOK – рехидратор/инокулатор (B1018-14) или еквивалентен

Турбидиметър

Вортекс

МАТЕРИАЛИ ЗА ЕДНОКРАТНА УПОТРЕБА

0,85 % автоклавиран физиологичен разтвор, 3 mL

Стерилни накрайници за пипети за еднократна употреба

Набор Inoculator-D (B1013-4)

Инокулумна вода, 3 mL (B1015-2)

Инокулумна вода с PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Система за инокулация Prompt® (B1026-10D)**

Запечатани ленти (B1010-51)

Капацы на поставки WalkAway (B1018-18)

ПРОЦЕДУРА

Подготовка на панела

1. Извадете панелите, които ще бъдат използвани от мястото на съхранение. Не използвайте, ако целостта на опаковката е нарушена (незапечатана, пробита или разкъсана).
2. Разрежете плика и извадете панела. Ако е съхраняван в хладилник, незабавно извадете панела от фолиевия плик.
3. **Панелите не трябва да се използват, ако съществува някое от следните условия:**
 - A. Липсва десикант или е нарушен.
 - B. Ямките на панела са обезцветени (напр. DCB, различни антимикробни средства).
4. Изчакайте панелите да достигнат стайна температура преди рехидратиране. Панелите могат да бъдат подредени един върху друг с поставена върху тях прозрачна поставка с капак. Всички отворени панели трябва да се използват в рамките на един ден или да се изхвърлят.

Подготвяне на инокулум

CLSI препоръчва периодично проверяване на плътностите на инокулума чрез определяне на количеството на колонии. Вижте документа M07 на CLSI, 11-то изд., за препоръки за определяне на количеството на колонии. Очакваните резултати за *E. coli* ATCC 25922 трябва да бъдат съвсем близо до 5×10^5 CFU/mL за крайните концентрации в теста.³ Потребителят трябва да упражнява голямо внимание при подготовката на инокулума, особено при ръчните методи, които зависят от техниката, например системата Prompt или инокулум, приготвен без помощта на фотометрично изделие.

1. Стандартна техника с мътност – Метод с първичен инокулум

За директна инокулация на всички аеробни грам-отрицателни бацили се препоръчва стандартна техника с мътност.

- A. Като използвате стерилна апликационна пръчица, примка или тампон, докоснете повърхността на 4–5 големи или 5–10 малки морфологично подобни, добре изолирани колонии от 18–24-часова неинхибиторна агарна плака.
- B. Емулгирайте в 3 mL инокулумна вода (автоклавирана дейонизирана вода).
- C. Затворете плътно и разбъркайте на вортекс суспензията за 2–3 секунди.
- D. Окончателната мътност трябва да бъде еквивалентна на тази на стандарт за мътност 0,5 McFarland. Еквивалентна мътност може да бъде постигната чрез използване на турбидиметър MicroScan с диапазон $0,08 \pm 0,02$.
- E. Пипетирайте 0,1 mL (100 μ L) от стандартизираната суспензия в 25 mL инокулумна вода с PLURONIC. Затворете плътно. Обърнете 8–10 пъти, за да смесите.

2. Система Prompt

Системата Prompt може да се използва за инокулиране на грам-отрицателни бацили. Вижте Prompt Inoculation procedural manual (Процедурно ръководство за инокулация Prompt) за правилната употреба на системата Prompt.

ЗАБЕЛЕЖКА: Използвайте внимателно. При организми, които не отговарят на изискването за размер, може да възникне недостатъчно инокулиране. Недостатъчното инокулиране може да доведе до некоректни резултати от теста за чувствителност и идентификация.

Тест за оксидаза

Изпълнете тест за оксидаза преди инокулиране на панелите. Запишете резултатите в съответното пространство в работния журнал или както се изисква от инструмента. Резултатите за оксидаза поддържат разделянето на таксони и ранно съобщаване за неферментатори (напр. *Acinetobacter baumannii* комплекс). За системи WalkAway резултатите за оксидаза се препоръчва да се въведат преди отпечатването на баркодовете. Някои

*Сърфактанти PLURONIC®. Регистрирана търговска марка на BASF Corporation, Parsippany, Ню Джърси, САЩ.

**3M, St. Paul, MN USA

неферментатори може да не се променят до 42 часа в зависимост от растежа. Препоръчителният реактив за оксидаза е тетраметил-р-фенилен-диамин-дихидрохлорид.

Рехидратиране/инокулиране на панела

Рехидратирането и инокулацията се извършват със системата RENOK с инокулатори-D (B1013-4). Вижте RENOK Operator's Manual (Ръководство за оператора на RENOK) за употребата. Ако се използва алтернативна система, рехидрирайте със 115 µL ±10 µL инокулумна вода с PLURONIC. Трябва да се постигне 3–7 x 10⁵ CFU/mL крайна концентрация на ямката. За да се осигури жизнеността и чистотата на тествания организъм, трябва да бъде подготвена петриева чашка със селективна хранителна среда чрез посяване на инокулума на ивици в подходяща плака с агар и инкубиране при подходящи условия. Ако в петриевата чашка със селективна хранителна среда присъстват два или повече типа колонии, изолирайте повторно колонии и повторете теста.

Биохимични приложения

1. Използвайте флакон с капкомер, за да покриете ямките GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN и DCB с 3 капки минерално масло. Тези ямки са подчертани на панела.
2. Средата в ямките трябва да бъде напълно покрита с минерално масло, но маслото не трябва да прелива от ямките.

ЗАБЕЛЕЖКА: Системите WalkAway (и системите WalkAway, надградени с функция за автоматична функция за нанасяне на масло) автоматично добавят масло към подходящите ямки.

Запечатана лента

Само при грам-отрицателни организми, положителни за оксидаза, поставете запечатана лента над ямките CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B и DCB. Локаторният отвор с размер четвърт инч в лентата трябва да бъде подравнен над ямката DCB. При системи WalkAway капакът се използва вместо запечатана лента.

Инкубация

1. Панелите могат да бъдат инкубирани в система WalkAway или инкубирани офлайн при изпълнение на следните стъпки:
 - A. За да се гарантира равномерно разпределение на топлината по време на инкубиране, подредете панелите в групи от 3–5.
 - B. Поставете чист капак върху всяка група панели, за да предотвратите изпарение. Капаците могат да се използват повторно. Не обеззаразявайте капациите със спирт. Те могат да бъдат почиствани със сапун и вода. Изплакнете ги добре и ги оставете да изсъхнат на въздух.
 - C. Инкубирайте панелите в продължение на минимум 16 часа при 35°C в инкубатор, в който не се използва CO₂.

Отчитане на панелите

Панелите могат да бъдат отчитани ръчно и резултатите да се регистриран в работния журнал за ръчни панели или в инструменти на MicroScan (системи autoSCAN-4 и WalkAway). Вижте Ръководството за оператора за отчитане на панелите с инструменти MicroScan.

1. След 16–20 часа инкубация отстранете панелите от инкубатора.
2. Изтрийте долната част на панела с кърпа без мъх, за да премахнете конденза или замърсяванията, които може да има по него.
3. Отчитайте панелите само ако контролната ямка е прозрачна и ямката за растеж е мътна. Не отчитайте панела, ако контролната ямка е мътна или ако няма растеж в ямката за растеж. Мътността може да приеме формата на неясен бял растеж в цялата ямка, на бяла пъпка в центъра на ямката или на фин зърнест растеж в цялата ямка. Неадекватен растеж или липса на растеж се дефинира като лека белезникавост в ямката или средата е прозрачна.
4. Ако резултатите се отчитат ръчно, запишете резултатите в подходящия работен журнал.

5. Отчитане на идентификационни субстрати

- A. Отчетете всички идентификационни субстрати с бял фон, с изключение на CET и антимикробните средства, използвани за идентификация (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), които трябва да бъдат отчитани на черен (индиректно осветен) фон.
- B. Следващите субстрати винаги се отчитат на 16–24 часа: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Ако някое от следните твърдения е вярно:
 - a. GLU или SUC, или SOR положителни, или
 - b. ARG положителна и OF/G положителна, или
 - c. ARG положителна и CET положителна, или

- d. LYS положителна или
- e. ORN положителна или
- f. OXI отрицателна и OF/G положителна, и Fd₆₄ положителна, и MAL положителна.

След това добавете реактиви и отчетете останалите субстрати на 16–24 часа от инкубирането. Ако никое от условията по-горе не е вярно, инкубирайте повторно панелите за още 24 часа, преди да добавите реактиви и да отчетете останалите субстрати.

- D. Ако след повторното инкубиране организъмът продължава да се представя като нереактивен, проверете, за да се уверите, че той има растеж във фенолово червени въглехидрати (по-специално, ако има слаб растеж или няма растеж в Мюлер-Хинтън контрола за растеж). Ако няма растеж във фенолово червените въглехидрати, трябва да се подозира високостепенен към хранителната среда организъм, например халофилен *Vibrio* вид. Оцветяването по Грам трябва да се повтори, за да се потвърди, че е грам-отрицателно.
- a. Ако има съмнения за клинично значимо заболяване, дължащо се на видове халофилен *Vibrio*, повторете тестването чрез емулгиране на няколко колонии в 3,0 mL стерилен 0,85 % физиологичен разтвор и изпълнете също и допълнително тестване, включващо растеж в сол, препоръчвано от софтуера. Крайната мътност трябва да бъде еквивалентна на 0.5 McFarland стандарт за мътност. Еквивалентна мътност може да се постигне чрез използването на турбидиметър MicroScan с диапазон от 0,08 ± 0,02. Рехидратирайте панела с 25 mL неинокулирана инокулумна вода с PLURONIC, като се използва RENOK. Като използвате стерилна пипета за трансфер, добавете една капка (45–50 µL) на суспензията от физиологичен разтвор към всяка ямка за идентификация, включително ямки за растеж Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ и Fd₆₄. Всички други стъпки за обработка на панел трябва да се изпълнят.
- E. Преди отчитане добавете реактивите, както следва:
- a. Добавете 1 капка 40 % калиев хидроксид (KOH) и 1 капка 5 % алфа-нафтол към ямката VP. Изчакайте поне 20 минути, за да протече реакцията във VP.
- b. Добавете 1 капка 10 % железен хлорид към ямката TDA. Цветът незабавно ще се прояви.
- c. Добавете 3 капки реактив на Ковач MicroScan към ямката IND. Цветът незабавно ще се прояви.
- ЗАБЕЛЕЖКА:** Реактивът на Ковач MicroScan представлява специална формула, създадена за използване с инструменти на MicroScan. Само една капка е необходимо да се използва, ако панелите се отчитат ръчно.
- d. Добавете 1 капка 0,8 % сулфанилова киселина, след което 1 капка от 0,5 % N, N-диметил-алфа-нафтиламин в ямката NIT. Изчакайте поне 5 минути, преди да отчетете, за да протече реакцията в NIT.
- F. Вижте раздела РЕЗУЛТАТИ за помощ при интерпретиране на биохимичните тестове.

РЕЗУЛТАТИ

1. Интерпретации на биохимични тестове

Ямка	Реагент	Положителен	Отрицателен
GLU		Само интензивно жълто	Оранжево до червено
		Някои неферментатори може да произведат златист цвят, който трябва да бъде считан за отрицателен резултат.	
SUC		Жълто до жълто-оранжев	Оранжево до червено
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Магента до розово	Жълто, оранжево или светлорозово
H ₂ S		Черна утайка или черна сфера	Без почернявания

Ямка	Реагент	Положителен	Отрицателен
IND	Добавете 3 капки реактив на Ковач MicroScan (или една капка, ако панелът се отчита визуално). Незабавно се проявява цвят.	Розов до червен	Бледожълто до оранжево
<i>Providencia</i> sp. може да образува бледорозов пръстен, който трябва да се разглежда като положителен резултат.			
Сравнете LYS, ARG и ORN с DCB. Тези ямки трябва да бъдат покрити с масло, за да бъдат валидни резултатите. Лилавият цвят се счита за положителен при сравняване със сива ямка DCB. Сивият цвят се счита за положителен при сравняване с жълта ямка DCB. При неферментатори положителен тест трябва да бъде значително по-лилав от базовия контрол. Ако базовият контрол е лилав, основната среда е била алкализирана и LYS, ARG и ORN трябва да бъдат регистрирани като отрицателни. Видовете <i>Achromobacter</i> и <i>Ochrobactrum anthropi</i> имат свойството да демонстрират това.			
LYS		Лилаво до сиво	Жълт
ARG		Лилав	Безцветно до сиво
ORN			
TDA	Добавете 1 капка 10 % железен хлорид. Незабавно се проявява цвят.	Всеки нюанс на кафяво	Жълт до оранжев
ESC		Светлокафяв до черен	Бежово до безцветно
VP	Добавете 1 капка 40 % KOH и 1 капка 5 % алфа нафтол. Изчакайте поне 20 минути, за да протече реакцията.	Червен	Безцветен
Някои неферментатори може да произведат бледорозов цвят след 18 часа инкубиране, който трябва да бъде считан за отрицателен резултат.			
ONPG		Жълт	Безцветен
Сравнете всяка ямка ONPG, която изглежда прозрачна, с ямката с цетримид. Ако ONPG има нюанс на жълтото в сравнение с ямката с цетримид, регистрирайте я като положителна.			
CIT		Син до синьо-зелен	Зелено до жълто
MAL		Всеки нюанс на синьото се счита за положителен резултат	
TAR			
ACE			
CET		Растеж	Без растеж
OF/G		Жълт	Ако основата OF е зелена: Зелено до синьо
		Жълт до зелен	Ако основата OF е синя до синьо-зелена: Син
Сравнете ямката OF/G с основната контрола OF.			
NIT	Добавете 1 капка 0.8 % сулфанилова киселина, след което 1 капка от 0,5 % N, N-диметил-алфа-нафтиламин. Изчакайте поне 5 минути, за да протече реакцията.	Червен	Безцветно до бледорозово
P ₄		Растеж (Резистентен)	Без растеж (Чувствителен)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Само за разпознаване на панел на autoSCAN-4 и система WalkAway.		

2. Принципи на реакциите за идентификация

Въгледхидратна ферментация (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Ферментацията на конкретен въгледхидрат води до образуване на киселина и намаляването на pH се открива чрез индикатор фенолово червено.

Урея (URE): Ензимът уреаза разгражда уреата до образуване на амоняк. Резултатното повишаване на pH се открива чрез индикатора фенолово червено.

Сероводород (H_2S): Сероводородният газ се получава от натриев тиосулфат и реагира с железни йони, намиращи се в средата, като се получава черна утайка.

Индол (IND): Метаболизмът на триптофана води до образуването на индол, който се открива чрез добавяне на реактив на Ковач. Ако има индол, се получава червен цвят.

Лизин, аргинин, орнитин (LYS, ARG, ORN): Декарбоксилирането на тези аминокиселини води до образуване на основни амини, които се откриват от индикатора бромкрезол лилаво.

Триптофан деаминаза (TDA): Бактериите, способни да дезаминират триптофана, произвеждат индол-пирувинова киселина, която реагира с железен амониев цитрат, който се намира в средата след добавяне на железен хлорид и се получава кафяв цвят.

Ескулинова хидролиза (ESC): Хидролизата на ескулин се открива чрез железен амониев цитрат в средата, който реагира с хидролизните продукти и образува черна утайка.

Фогес-Проскауер (Voges-Proskauer) (VP): Ацетоинът се произвежда от натриев пируват и се показва от образуването на червен цвят след добавяне на 40 % калиев хидроксид и 5 % алфа нафтол.

Галактозидаза (ONPG): β -галактозидазата хидролизира орто-нитрофенил- β -D-галактопиранозид, който освобождава орто-нитрофенол с жълт цвят.

Цитрат, малонат, ацетамид, тартрат (CIT, MAL, ACE, TAR): Използването на тези субстрати като единствен източник на въглерод за метаболизма води до повишаване на pH, което се открива от индикатора бромтимолово синьо.

Окисление-Ферментация (OF/G): Окисляването на глюкозата води до образуване на киселина и намаляването на pH се открива от индикатора бромтимолово синьо. OF/G се сравнява с OF/B (основа) за определяне дали е образувана киселина.

Нитрат (NIT): Способността на даден организъм да редуцира нитрата до нитрит се открива чрез добавяне на N, N-диметил-алфа-нафтиламин и сулфанилова киселина, които произвеждат червен цвят в присъствието на нитрит.

Цетримид (CET): Устойчивост на цетримид се демонстрира чрез растеж в среда на Мюлер-Хинтън, към която е добавен цетримид.

Пеницилин, канамицин, колистин, цефалотин, нитрофурантоин, тобрамицин (P_4 , K_4 , Cl_4 , Cf_8 , Fd_{64} , To_4): Резистентност към специфични концентрации на тези антимикробни агенти се демонстрира чрез растеж.

3. Идентификация на организъм

Biotype Lookup Program в информационния диспечер LabPro и в уебсайта на Beckman Coulter се използва за идентификация на неизвестни тестови организми. Програмата включва идентификация на организми и съответстващите вероятности, от най-високата вероятност до кумулативна обща вероятност от 99,9 %.

Ако се получи номер на биотип, който дава резултат „Very Rare Biotype“ (Много рядък биотип), се консултирайте със софтуера LabPro (Utilities (Сервизни програми)>System (Система)>Biotype Lookup (Търсене на биотип), Biotype Lookup Program на уебсайта на Beckman Coulter или с представителя или дистрибутора на Beckman Coulter.

ОГРАНИЧЕНИЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

1. *Haemophilus* и други вискателни към хранителната среда грам-отрицателни бактерии няма да се развият в среда на Мюлер-Хинтън, към която не са добавени фактори за обогатяване на растежа.
2. Процедурите, описани тук, са подходящи само за факултативни анаеробни и аеробни грам-отрицателни бацили.
3. Възможно е да се наложи извършването на допълнителни тестове за определяне на крайната идентификация, когато се получи идентификация с ниска вероятност (<85 %) (вижте MicroScan Biotype Lookup Program (Програма за търсене на биотип MicroScan) или ръководството по микробиология.
4. Интерпретирането на резултатите от теста изисква обучен клиничен персонал, който трябва да прилага своята преценка, познания и допълнителни тестове за потвърждение, когато се налага, преди приемане на идентификацията на организма.
5. Номерата на биотиповете не трябва да се използват за фенотипна идентификация на щамове, изолирани от различни видове от един и същ пациент.

6. Представители на органите на здравеопазването трябва да бъдат уведомени за всички изолати, за които се предполага, че са идентифицирани като *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* или *F. tularensis*. Потвърждаването на изолати на тези бактерии може да изисква специализирано тестване, налично само в референтни лаборатории или лаборатории на органите на здравеопазването.

КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

Приемливостта на средата за идентификация трябва да бъде проверена чрез тестване на организми с известни реакции. Резултатите за препоръчаните контролни организми от American Type Culture Collection (Колекция от американски тип култури) (ATCC) са изброени в следващата таблица.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Син, синьо-зелен, зелен	Син, синьо-зелен	Син, синьо-зелен, зелен	Син, синьо-зелен, зелен
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Сиво до жълто	Сив до жълто-сив	Жълт	Не е приложимо
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Не е приложимо
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	Не е приложимо
To ₄ ²	-	-	-	Не е приложимо

1. American Type Culture Collection, Манасас, Вирджиния, САЩ.

2. Вижте таблицата с допълнителни тестове за допълнителни положителни или отрицателни реакции, необходими за всяко биохимично изследване.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 може да образува бледорозов цвят във VP след 18-часово инкубиране, което трябва да се интерпретира като отрицателен резултат.

4. Слаба положителна реакция може да се получи с *E. coli* ATCC 25922, ако панелите се инкубират по-продължително от 18 часа.

5. Може да се наложи инкубиране за 48 часа.

N/A = Не е приложимо

ЗАБЕЛЕЖКА: Организми за контрол на качеството се избират за осигуряване на положителни/отрицателни реакции за всички идентификационни субстрати. Като резултат идентификациите на организмите може да се различават от посочените в диаграмата за КК. Приемливостта на работните характеристики на продукта трябва да бъде определена чрез сравняване на резултатите от тест, не чрез идентификацията.

Таблица с допълнителни тестове

Организъм	Субстрат	Очаквани резултати
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotidis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Идентификация на изсушени грам-отрицателни – Опростен КК на идентификация (ИД) ¹					
Организъм за КК	Номер на ATCC	Ключов индикатор Субстрат	Очаквани резултати	Резултат извън спецификациите	Нестабилна субстрат
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Да
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Да

1. Ключови индикатори за контрол на качеството са предоставени за опростения КК съгласно документ M50-A на CLSI.⁴ Преди внедряване на опростената програма за КК вижте документа M50-A за подробна информация и съгласувайте със съответните регулаторни агенции и инспектиращи групи нейното приемане.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ИЗПЪЛНЕНИЕТО

Заявените характеристики за изсушените грам-отрицателни идентификационни панели MicroScan са установени в многоцентрово изпитване. Тествани са клинични изолати и изходни щамове върху изсушен отрицателен панел за ИД от тип 2 и традиционните методологии с епруветки, за да се представи типът на бактериалната популация, очаквана в обичайна клинична лаборатория. Виж раздел Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli (Изсушени (традиционни) отрицателни панели: грам-отрицателни аеробни бацили) в Microbiology Information Manual (Информационно ръководство по микробиология) за пълен списък на организмите, включени в базата данни.

Процент съгласуване с референтен метод

Брой тествани	# Правилна идентификация	% правилна идентификация
609	593	97,4

ВЪЗПРОИЗВОДИМОСТ

Възпроизводимостта се установява чрез тестване на множество репликати при различни условия (напр. партии панели, дни, инструменти, потребители). Може да включва и щамове за КК, клинични изолати или и двете. Общата съгласуваност е $\geq 95\%$.

ГАРАНЦИОННО ОБСЛУЖВАНЕ

Системата е обхваната и е предмет на клаузите за гаранция, включени във Вашето договорно споразумение за системата и нейните реактиви. Клиентът е отговорен за изпълнението на рутинни процедури за профилактика. Ремонти, наложени от неизпълнение на тези процедури за техническо обслужване в посочените интервали от време, се правят по усмотрение на Beckman Coulter и за сметка на клиента.

ИЗВЕСТИЕ ЗА ПОТРЕБИТЕЛИТЕ

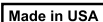
Всеки сериозен инцидент, който е настъпил във връзка с панели MicroScan, трябва да бъде докладван на Beckman Coulter и на компетентния орган на държавата членка, в която потребителят и/или пациентът са установени.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ	ДАТА	ОПИСАНИЕ
AA	май 2022 г.	Първоначално издание
AB	декември 2022 г.	Актуализирани: Възпроизводимост

Легенда на символите

Следните символи може да са използвани при етиктирането на продукти в сферата на микробиологията на Beckman Coulter.

Легенда на символите			
Символ	Название на символа	Описание на стандарта	Стандарт
	Не използвайте повторно	Указва медицинско изделие, което е предназначено за една употреба или за употреба върху един пациент по време на еднократна процедура.	ISO 15223-1, клауза 5.4.2
	Срок на годност	Посочва датата, след която медицинското изделие не трябва да се използва.	ISO 15223-1, клауза 5.1.4
	Код на партида	Посочва кода на партидата на производителя, по който да може да се идентифицира партида.	ISO 15223-1, клауза 5.1.5
	Каталожен номер	Посочва каталожния номер на производителя, по който да може да се идентифицира медицинското изделие.	ISO 15223-1, клауза 5.1.6
	Производител	Посочва производителя на медицинското изделие, както е дефиниран в Директивите на ЕС 90/385/ЕИО, 93/42/ЕИО и 98/79/ЕО.	ISO 15223-1, клауза 5.1.1
	Дата на производство	Посочва датата, на която медицинското изделие е произведено.	ISO 15223-1, клауза 5.1.3
	Оторизиран представител в Европейската общност	Обозначава оторизирания представител в Европейската общност.	ISO 15223-1, клауза 5.1.2
	Съдържа достатъчно за <n> теста	Показва общия брой на IVD тестове, които могат да бъдат изпълнени с IVD. (Обикновено включени в комплекти реактиви).	ISO 15223-1, клауза 5.5.5
	Медицинско изделие за <i>in vitro</i> диагностика	Посочва медицинско изделие, което е предназначено за употреба като медицинско изделие за <i>in vitro</i> диагностика.	ISO 15223-1, клауза 5.5.1
	Температурно ограничение	Посочва температурните ограничения, до които медицинското изделие може да бъде излагано безопасно.	ISO 15223-1, клауза 5.3.7
	Вижте инструкциите за употреба	Посочва необходимостта потребителят да се консултира с инструкциите за употреба.	ISO 15223-1, клауза 5.4.3
	СЕ маркировка	Европейска регулаторна маркировка за съответствие	Не е приложимо
	Съдържание	Не е приложимо	Не е приложимо
	Съдържание (опаковка)	Антимикробно средство (съкращение)	Не е приложимо
	Съдържание (опаковка)	Идентификация на хранителната среда (съкращение)	Не е приложимо
	Информационен лист за безопасност	Показва информационни листи за безопасност.	Не е приложимо
	Произведено в САЩ	Не е приложимо	Не е приложимо
	Само за експорт	Не е приложимо	Не е приложимо
	Обем на възстановяване	Не е приложимо	Не е приложимо
	Чупливо, манипулирайте внимателно	Указва медицинско изделие, което може да бъде счупено или повредено, ако с него се работи небрежно.	ISO 15223-1, клауза 5.3.1
	От тук нагоре	Посочва правилното положение за изправяне	ISO 7000: 0623
	Информация само за САЩ	Показва информация, която се изисква само за продукти, предназначени за продажба в САЩ.	Не е приложимо
	Да се използва само по предписание	Признато от Агенцията по храните и лекарствата (FDA) на САЩ като заместващо „Внимание: Федералното законодателство ограничава продажбата на това изделие само от или по поръчка на лицензиран практикуващ лекар“	21CFR 801.109(b)(1)

Легенда на символите			
Символ	Название на символа	Описание на стандарта	Стандарт
	Биологични рискове	Показва, че съществуват потенциални биологични рискове, свързани с медицинското изделие. Забележка: Този символ не трябва да се бърка със знака за биологична опасност, който е предназначен да се използва на работното място.	ISO 15223-1, клауза 5.4.1
DANGER	Опасно	Не е приложимо	Не е приложимо
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: Медицински изделия – Символи, използвани в етикетите на медицинските изделия, при етикетиране и в предоставяната информация. Част 1: Общи изисквания).			

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

MicroScan
革蘭氏陰性菌鑑定第 2 型操作手冊，LabPro 軟體版本 5.0 及更高版本

REF B1017-27

預期用途

MicroScan 陰性菌鑑定檢驗組第 2 型是一種 體外診斷醫療裝置，專門針對分離菌落中快速生長的嗜氧及兼性厭氧格蘭氏陰性桿菌的抗菌劑感受性進行定性測定，可測定至「種」的分類層級。培養方法與結果測定採用 WalkAway 儀器的全自動化或 autoSCAN-4 儀器的非自動化離線培養搭配 autoSCAN-4 儀器讀取或手動讀取（在 LabPro 資料管理系統中手動輸入結果的方式）。

預期使用者

本產品為實驗室專用。

摘要和原理

以微生物的標準化懸浮液接種和再水化檢驗組後，在 35°C 溫度下培養至少 16 小時。鑑定具發酵能力與不具發酵能力的格蘭氏陰性桿菌時，則使用修改過的傳統呈色測試法。鑑定時偵測酸鹼值變化、基質利用情形，以及在含有抗菌劑的條件下 35°C 培養 16~42 小時後的生長程度作為依據。¹

陰性菌鑑定第 2 型檢驗組			
基質	縮寫	基質	縮寫
葡萄糖	GLU	伏普 (Voges-Proskauer)	VP
蔗糖	SUC	檸檬酸鹽	CIT
山梨醇	SOR	丙二酸	MAL
木棉糖	RAF	鄰位-硝基苯基-β-D-半乳糖皮蔥	ONPG
鼠李糖	RHA	酒石酸鹽	TAR
阿拉伯糖	ARA	乙醯胺	ACE
肌醇	INO	溴棕三甲胺	CET
核糖醇	ADO	OF 葡萄糖	OF/G
蜜二糖	MEL	OF 培養基	OF/B
脲	URE	以脫羧酵素為主	DCB
硫化氫	H ₂ S	硝酸鹽	NIT
吲哚	IND	青黴素 G 4 µg/mL ¹	P ₄
離胺酸	LYS	康黴素 4 µg/mL ¹	K ₄
精氨酸	ARG	柯利黴素 4 µg/mL ¹	Cl ₄
鳥氨酸	ORN	硝基呋喃妥因 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
色氨酸脫氨酶	TDA	頭孢噻吩 8 µg/mL ¹	Cf ₈
七葉靈	ESC	托普黴素 4 µg/mL ¹	To ₄

1. 鑑定用的抗菌劑。

臨床相關性

測試結果已結合其他實驗室結果和臨床指標加以判讀，用於改進出現症狀之患者的抗菌劑治療。

警告和預防措施

1. 僅供 體外診斷用。
2. 所以程序全程均應採用無菌技術操作，遵守預防微生物危害的措施，並特別留意接種過的檢驗組，因為可能含有致病的微生物。
3. 本產品的材料含有感染性物質，丟棄時應比照生物性危害廢棄物妥善處置。
4. 本項測試的結果應結合患者病史、臨床表徵及其他診斷結果一同用於推論病況。
5. 僅供單次使用。除非另有註記，否則請勿重複使用所有 MicroScan 檢驗組與消耗品。（例如蓋盤）
6. 本品含有源自微生物脫水培養基的動物性材料。處理本品時應遵循一般安全指引以保護自身安全。

貯存

乾式格蘭氏陰性菌檢驗組必須儲存於 2-25°C 的環境。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

變質的證據

在建議以外的儲存條件暴露過長時間，可能會導致鑑定用基質水解。若超過有效期限，請勿使用。如需進一步的協助，請聯絡您的貝克曼庫爾特代表或經銷商。

樣本採集和配製

應根據 *Manual of Clinical Microbiology* (臨床微生物學手冊) 的指示收集及運送適當的標本，並放置於主要的分離培養基中。²

提供的材料

陰性菌鑑定第 2 型 (B1017-27)

操作與品質管制手冊

未提供但卻需要的材料

5% α-萘酚，30 mL (B1010-42A)

10% 氯化鐵，30 mL (B1010-48A) 或 250 mL (B1015-48)

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

40% 氫氧化鉀，30 mL (B1010-43A) 或 250 mL (B1015-43)

0.8% 磺胺酸，30 mL (B1010-44A) 或 250 mL (B1015-44)

0.5 McFarland 濁度標準

100 µL 移液器

條碼標籤紙 (B1018-129)

反應蓋盤 (B1010-56B)

一般實驗室裝置

Kovac 試劑，30 mL (B1010-41A) 或 250 mL (B1015-41)

人工判讀檢驗組工作表 (用來記錄人工判讀結果)

微量稀釋檢視器

礦油，60 mL (B1010-40)

礦油，250 mL (B1010-40A)

氧化酶試劑

品質管制微生物 (請參考本手冊的「QC」部份)

品質管制報告表格

試劑滴管瓶套組 (B1013-12A)

RENOK — 注水器/接種器 (B1018-14) 或具相同功能的產品

濁度計

震盪器

一次性材料

滅菌消毒過的 0.85% 食鹽溶液，3 mL

拋棄式消毒移液器吸管

Inoculator-D 組合 (B1013-4)

接種專用水，3 mL (B1015-2)

含有 PLURONIC® 的接種專用水，25 mL (B1015-7)*

Prompt® 接種系統 (B1026-10D)**

封口膠帶 (B1010-51)

WalkAway 反應盤蓋 (B1018-18)

*PLURONIC® 表面活性劑。BASF 股份 (有限) 公司 (Parsippany, NJ USA) 的註冊商標。

**3M 公司，美國明尼蘇達州聖保羅市。

程序

檢驗組製備

1. 由儲存處取出要使用的檢驗組。切勿使用包裝不完整的檢驗組（未密封、有破洞或已撕開）。
2. 剪開包裝袋取出檢驗組。若儲存於冰箱中，應立即從鋁箔包裝袋取出檢驗組。
3. **檢驗組若有以下狀況，不得使用：**
 - A. 沒有乾燥劑或乾燥劑破損。
 - B. 檢驗組的反應孔已經變色（例如 DCB、各種抗菌劑）。
4. 再水化前讓檢驗組先回復至室溫。檢驗組頂部可覆上乾淨的反應蓋盤然後疊放。檢驗組開封後一律應於當天使用，否則便應丟棄。

接種液製備

CLSI 建議以菌落計數方式定期檢查接種液的濃度。請參考 CLSI 文件 M07 第 11 版以了解關於菌落計數的建議事項。*E. coli* ATCC 25922 的預期結果應非常接近 5×10^5 CFU/mL 的最終測試濃度。³ 使用者對接種液的製備應特別謹慎，尤其是使用如 Prompt 系統之類仰賴操作技術的人工方法，或在未使用光度測定裝置的情形下製備接種液。

1. 濁度標準技術 - 初次接種方法

建議將濁度標準技術用於各種需氧格蘭氏陰性桿菌的直接接種。

- A. 使用無菌擦拭棒、圈或棉籤來碰觸 18 至 24 小時後非抑制性瓊脂盤上，型態類似、分離良好的 4 至 5 個大型或 5 至 10 個小型菌落。
- B. 在 3 mL 的接種專用水（滅菌消毒過的去離子水）中攪散形成白色均勻的懸浮液。
- C. 鎖緊瓶蓋並讓懸浮液渦轉 2–3 秒。
- D. 最終濁度應相當於 0.5 McFarland 濁度標準的程度。可使用讀數範圍為 0.08 ± 0.02 的 MicroScan 濁度計，調整至等效濁度。
- E. 分注 0.1 mL (100 μ L) 標準化懸浮液至 25 mL 含有 PLURONIC 的接種專用水中。鎖緊瓶蓋。翻轉試管 8-10 次以進行混合。

2. Prompt 系統

Prompt 系統可用於接種格蘭氏陰性桿菌。請參考 Prompt Inoculation Procedural Manual（Prompt 接種操作手冊），以了解 Prompt 系統的正確使用方法。

註：請小心使用。當細菌菌落未達要求大小時可能發生接種量不足的情形。接種量不足可能會導致感受性及鑑定測試結果錯誤。

氧化酶測試

接種檢驗組前應進行氧化酶測試。請在工作表上適當的空白處記錄結果，或依照儀器要求記錄結果。氧化酶測試結果支援分離的分類群和非發酵菌的早期報告（例如，*Acinetobacter baumannii* 複合物）。若使用 WalkAway 系統，建議在列印條碼前輸入氧化酶測試結果。部分非發酵菌可能仍持續 42 小時，具體取決於生長狀況。建議採用的氧化酶試劑為四甲基-p-苯基-二胺-二氫氯化物。

檢驗組再水化/接種

利用 RENOK 系統與 Inoculators-D (B1013-4) 執行注水與接種步驟。請參考 RENOK Operator's Manual（RENOK 操作手冊）的使用說明。若使用其他系統，則以含 PLURONIC 的 115 μ L $\pm$ 10 μ L 接種液再水化。反應孔應達到 $3 \sim 7 \times 10^5$ CFU/mL 的最終濃度。為確保受測微生物的存活能力與純度，可將接種液劃線接種於適當瓊脂平板培養基，並在適當條件下繼續培養，以準備純化平板培養基。若前述純化平板培養基上出現兩種或更多種菌落，則須重新分離菌落及重新測試。

覆蓋生化反應受質

1. 利用滴管瓶，在 GLU、URE、H₂S、LYS、ARG、ORN 與 DCB 反應孔中各滴入 3 滴礦油以覆蓋反應孔。檢驗組的這些反應孔已做了記號。
2. 反應孔中的培養基必須以礦油完全覆蓋，但不可讓礦油溢出反應孔。

註：WalkAway 系統（以及升級了自動覆油功能的 WalkAway 系統）會自動向適當的反應孔中加油。

封口膠帶

請在 CIT、MAL、ONPG、TAR、ACE、CET、OF/G、OF/B 與 DCB 反應孔上貼封口膠帶，此舉僅針對氧化酶陽性的格蘭氏陰性微生物。膠帶上四分之一英吋的定位孔應對準 DCB 反應孔。對於 WalkAway 系統，應使用蓋子取代封口膠帶。

培養

1. 檢驗組可放入 WalkAway 系統中培養，或採取以下步驟於系統外進行培養：
 - A. 為確保培養時均勻受熱，可將 3-5 個檢驗組分組堆疊在一起。
 - B. 將乾淨的反應蓋盤蓋在每堆檢驗組的上方，以避免蒸發。反應蓋盤可重複使用。請勿使用酒精消毒反應盤蓋，但可使用肥皂與水對其進行清潔，然後沖洗乾淨後風乾。

C. 將檢驗組放入 35°C、無 CO₂ 的培養箱，培養至少 16 小時。

判讀檢驗組的結果

可對檢驗組進行人工判讀，並將結果記錄在人工判讀檢驗組工作表或 MicroScan 儀器中 (autoSCAN-4 和 WalkAway 系統)。關於使用 MicroScan 儀器設備判讀檢驗組的方法，請參閱操作手冊。

1. 經過 16~20 小時培養後，將檢驗組由培養箱中取出。
2. 以無絨紙巾擦拭檢驗組底部，除去可能出現的凝結液滴或碎屑。
3. 只有在對照組反應孔澄清而生長反應孔混濁的情形下，才可讀取檢驗組的結果。對照反應孔混濁或生長反應孔無生長跡象時，不應據此判讀檢驗組的結果。混濁的呈現方式可能有：整個反應孔內形成白色雲霧狀、孔中央出現白色圓形，或整個孔內產生細小顆粒。生長不足或無生長的定義為，反應孔內呈現些微白色，或培養液澄清。
4. 假使以人工判讀結果，必須在適當的工作表上記錄結果。
5. **判讀鑑定用基質反應**
 - A. 除了 CET 與鑑定用抗菌劑 (Cl₄、Cf₈、P₄、K₄、Fd₆₄、To₄) 外，在白色背景下讀取所有鑑定用受質的反應結果；上述例外則應在黑色背景下 (間接光源) 判讀。
 - B. 下列受質一律在 16-24 小時內判讀：GLU、SUC、SOR、RAF、RHA、ARA、INO、ADO、MEL、P₄、K₄、Cl₄、Fd₆₄、Cf₈、To₄。
 - C. 如果取得下列任一結果：
 - a. GLU 或 SUC 或 SOR 陽性，或者
 - b. ARG 陽性且 OF/G 陽性，或者
 - c. ARG 陽性且 CET 陽性，或者
 - d. LYS 陽性，或者
 - e. ORN 陽性，或者
 - f. OXI 陰性且 OF/G 陽性且 Fd₆₄ 陽性且 MAL 陽性。

然後加入試劑，在培養 16-24 小時後判讀剩餘受質。如果未取得上述任一結果，在加入試劑前繼續培養檢驗組 24 小時並判讀剩餘受質。

- D. 如果微生物在繼續培養後仍無反應，應檢查確認該微生物在含有苯酚紅的醣類反應孔中有生長現象 (特別是 Mueller-Hinton 生長對照反應孔中生長不佳或沒有生長時)。如果在含有苯酚紅的醣類反應孔中沒有生長現象，則應懷疑是挑剔性微生物，例如嗜鹽性弧菌 (*Vibrio*)。此時應重新進行格蘭氏染色，確認該微生物為格蘭氏陰性菌。
 - a. 如果懷疑嗜鹽性弧菌 (*Vibrio*) 引發嚴重疾病，應取數個菌落在 3.0 mL 的無菌 0.85% 食鹽溶液中攪散成白色均勻懸浮液後再重新測試，並按照軟體建議進行追加測試，例如在高鹽環境中的生長。最終濁度應該相當於 0.5 McFarland 濁度標準的程度。可使用一個讀數範圍為 0.08 ± 0.02 的 MicroScan 濁度計調整至等效濁度。利用 RENOK 以 25 mL 含有 PLURONIC、未經接種的接種專用水再水化檢驗組。以無菌分注器向每個鑑定反應孔各加入一滴 (45-50 µL) 前述食鹽溶液懸浮液，包括生長反應孔、Cl₄、Cf₈、To₄、P₄、K₄ 及 Fd₆₄ 反應孔。應遵循所有其他檢驗組處理步驟。
- E. 按照以下方式加入試劑後，再讀取結果：
 - a. 在 VP 反應孔中，加入 1 滴 40% 氫氧化鉀 (KOH) 和 1 滴 5% α-萘酚。等候至少 20 分鐘讓 VP 反應呈色。
 - b. 在 TDA 反應孔，加入 1 滴 10% 氯化鐵。顏色會立即呈現。
 - c. 在 IND 反應孔中，加入 3 滴 MicroScan Kovac 試劑。顏色會立即呈現。
註： MicroScan Kovac 試劑配方經過特殊設計，以搭配 MicroScan 儀器使用。以人工判讀檢驗組時，只須加入 1 滴試劑。
 - d. 加入 1 滴 0.8% 磺胺酸後，再加入 1 滴 0.5% N,N-二甲基-α-萘胺至 NIT 反應孔。等候至少 5 分鐘讓 NIT 反應呈色，然後再讀取結果。
- F. 請參考手冊的「結果」部份來協助判讀生化反應。

結果

1. 生化反應的判讀

反應孔	試劑	陽性	陰性
GLU		僅深黃色	橘色至紅色
部分不具葡萄糖發酵能力菌種的反應可能呈金色，這種情形應判定為陰性。			

反應孔	試劑	陽性	陰性
SUC SOR RAF RHA ARA INO ADO MEL URE		黃色至黃色/橘色	橘色至紅色
H ₂ S		紫紅色至粉紅色	黃色、橘色或淡粉紅色
IND	加入 3 滴 (若目視判讀檢驗組則改為一滴) MicroScan Kovac 試劑。顏色會立即呈現。	黑色沉澱物或呈黑色鈕扣狀 粉紅色至紅色	未變黑 淡黃色至橘色
<i>Providencia</i> sp. 可能出現淡粉紅色環，這種情形應判定為陽性。			
將 LYS、ARG 及 ORN 的結果與 DCB 進行比較。這些反應孔必須覆油，結果才算有效。相較灰色 DCB 反應孔，紫色判定為陽性。相較黃色 DCB 反應孔，灰色判定為陽性。對於不具葡萄糖發酵能力者，陽性測試反應必須比基礎培養基對照品呈現更明顯的紫色。如果基礎培養基對照品呈紫色，代表基礎培養基已經鹼化，此時應將 LYS、ARG 與 ORN 記錄為陰性。 <i>Achromobacter</i> 菌種與 <i>Ochrobactrum anthropi</i> 可能有此現象。			
LYS ARG ORN		紫色至灰色	具發酵能力者： 黃色 非發酵菌： 無色至灰色
TDA	加入 1 滴 10% 氯化鐵。顏色會立即呈現。	紫色 任何棕色的跡象	無色至灰色 黃色至橘色
ESC		淡棕色至黑色	淺褐色至無色
VP	加入 1 滴 40% 氫氧化鉀與 1 滴 5% α-萘酚。等候至少 20 分鐘讓反應呈色。	紅色	無色
ONPG		部分不具葡萄糖發酵能力的細菌培養 18 小時後可能呈淡粉紅色，這種情形應判定為陰性。 黃色	無色
CIT MAL TAR ACE CET		將外觀澄清的任意 ONPG 反應孔與溴棕三甲胺反應孔進行比較。若與溴棕三甲胺反應孔相比，ONPG 出現任何黃色的跡象，則記錄為陽性。 藍色至藍綠色 任何藍色的跡象均判定為陽性	綠色至黃色
OF/G		生長	無生長
		黃色	若 OF 培養基為綠色： 綠色至藍色 如果 OF 培養基呈現藍色到藍綠色的色澤： 藍色
		黃色至綠色	藍色
		比較 OF/G 反應孔與 OF 培養基對照孔。	
NIT	加入 1 滴 0.8% 磺胺酸後，再加入 1 滴 0.5% N,N-二甲基-α-萘胺，等候至少 5 分鐘讓反應呈色。	紅色	無色至淡粉紅色
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		生長跡象 (抵抗性)	無生長跡象 (感受性)
LOC	僅適用於 autoSCAN-4 與 WalkAway 系統的檢驗組辨識功能。		

2. 鑑定反應的原理

醱類發酵 (GLU、SUC、SOR、RAF、RHA、ARA、INO、ADO、MEL)：特定醱類發酵會形成酸性物質，酸鹼試劑苯酚紅可偵測酸鹼值降低的情形。

尿素 (URE)：酵素尿素酶會分離尿素形成氨。酸鹼試劑苯酚紅可偵測因此升高的酸鹼值。

硫化氫 (H₂S)：硫化氫氣體自硫代硫酸鈉產生後，與培養基中三價鐵離子反應形成黑色沉澱物。

吡啶 (IND)：色氨酸代謝導致吡啶的形成，可添加 Kovac 試劑以對其進行偵測。吡啶存在時呈紅色反應。

離氨酸、精氨酸、鳥氨酸 (LYS、ARG、ORN)：這些氨基酸經脫羧反應後會形成鹼性胺類，酸鹼試劑溴甲酚紫可偵測酸鹼值的變化。

色氨酸脫氨酶 (TDA)：具色氨酸脫氨能力的細菌會生成吡啶丙酮酸，培養基加入氯化鐵則會形成檸檬酸鐵銨，兩者反應可產生棕色的顏色變化。

粟糖苷水解 (ESC)：培養基中的檸檬酸鐵銨可偵測粟糖苷水解反應，其會與水解產物反應形成黑色沉澱物。

伏普氏試劑 (VP)：由丙酮酸鈉形成的乙醯甲基甲醇，會與之後加入的 40% 氫氧化鉀及 5% α-奈酚反應，產生紅色的顏色變化。

半乳糖苷酶 (ONPG)：β-半乳糖苷酶會水解鄰位-硝基苯基-β-D-半乳糖皮蔥，釋出黃色的鄰硝基苯酚（鄰位-硝基苯酚）。

CIT、MAL、ACE、TAR：代謝時以這些受質作為碳的唯一來源會使酸鹼值升高，酸鹼試劑溴瑞香草酚藍可偵測此反應。

葡萄糖氧化發酵反應 (OF/G)：葡萄糖氧化會形成酸性物質，酸鹼試劑溴瑞香草酚藍可偵測到酸鹼值降低。判讀時必須比較 OF/G 與 OF/B（基礎培養基）兩者的反應，判斷是否形成任何酸性物質。

硝酸鹽 (NIT)：微生物將硝酸鹽還原成亞硝酸鹽的能力，可先加入 N,N-二甲基-α-萘胺後再加入磺胺酸進行偵測，亞硝酸鹽存在時會產生紅色的顏色變化。

溴棕三甲胺 (CET)：若添加了溴棕三甲胺的 Mueller-Hinton 培養液中有生長現象，可證實微生物對溴棕三甲胺具有耐受性。

盤尼西林、卡那黴素、黏菌素、頭孢菌素、硝基喃、妥布黴素 (P₄、K₄、Cl₄、Cf₈、Fd₆₄、To₄)：若這些抗菌劑反應孔中有生長現象，可證實微生物對特定濃度的抗菌劑具有抵抗性。

3. 微生物鑑定

LabPro 資訊管理系統與貝克曼庫爾特網站均提供 Biotype Lookup Program，可用以鑑定未知的受測微生物。程式會依照最高機率的順序列出微生物鑑定結果與相對機率，直到總累積機率達 99.9% 為止。

假使輸入的生物分型編號得到「Very Rare Biotype」（非常罕見的生物分型）訊息結果，請查詢 LabPro 軟體（Utilities（公用程式）>System（系統）>Biotype Lookup（生物分型查詢））、貝克曼庫爾特網站上的 Biotype Lookup Program，或洽詢您的貝克曼庫爾特代表或經銷商。

程序限制

1. *Haemophilus* 與其他挑剔性格蘭氏陰性菌在未添加促進生長因子的 Mueller-Hinton 氏培養液中不會生長。
2. 此處提及的操作程序僅適用於兼性厭氧與嗜氧的格蘭氏陰性桿菌。
3. 如果鑑定出低可能性 (<85%) 的情況，請進行其他測試以便判斷最終鑑定結果（請參考 MicroScan Biotype Lookup Program（MicroScan 生物分型查詢程式）或 Microbiology Manual（微生物學手冊））。
4. 測試結果須經訓練有素的臨床專業人員以其判斷、知識進行判讀，並在必要時追加確認測試，然後才可接受微生物鑑定的結果。
5. 生物分型編號不應該用於同一患者、不同標本分離菌株的表現型鑑定。
6. 假使鑑定結果推測分離菌株為 *B. anthracis*、*Y. pestis*、*B. mallei*、*B. pseudomallei* 或 *F. tularensis*，應通報公衛主管機關。確認這類細菌的分離菌株時，必須使用參比實驗室或公衛實驗室才有能力進行的特殊測試方法。

品質管制

鑑定培養基的品質應該利用已知反應形態的測試微生物來檢查。建議採用的美國標準菌種中心 (ATCC) 品管微生物及其結果如下表所示。*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-

*美國標準菌種中心 (ATCC)，位於美國維吉尼亞州 Manassas 市

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	藍色、藍綠色、綠色	藍色、藍綠色	藍色、藍綠色、綠色	藍色、藍綠色、綠色
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	灰色至黃色	灰色至黃灰色	黃色	不適用
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	不適用
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	不適用
To ₄ ²	-	-	-	不適用

1. 美國標準菌種中心 (ATCC)，位於美國維吉尼亞州 Manassas 市
2. 如有需要，請參考「追加測試表格」，以瞭解各項生化反應的陽性或陰性表現。
3. 培養 18 小時後，*P. aeruginosa* ATCC 27853 的 VP 反應孔可能呈淡粉紅色，這種情形應判讀為陰性。
4. 若檢驗組培養時間超過 18 小時，*E. coli* ATCC 25922 可能呈弱陽性反應。
5. 可能需要培養 48 小時。

N/A = 不適用

註：挑選品質管制微生物的用意在於呈現所有鑑定用受質的陽性/陰性反應。微生物的鑑定結果可能與 QC 表格中的描述有所差異。產品效能的品質應該以比較測試結果來決定，而非鑑定。

追加測試表格

微生物	基材	預期結果
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

乾式格蘭氏陰性菌檢驗組鑑定 — 鑑定流程 QC ¹					
QC 微生物	ATCC 編號	重要指標受質	預期結果	超出規格時的結果	不穩定受質
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	是
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	是

1. 品質管制的重要指標，係依照 CLSI 文件 M50-A 規定的方式提供用於鑑定流程 QC。⁴執行鑑定流程 QC 計畫前，請參考文件 M50-A 以了解其執行細節，並與相關主管機關及監督團體溝通，確認其是否認可計畫內容。

性能特色

MicroScan 乾式格蘭氏陰性菌鑑定檢驗組所宣稱的效能，透過一個多中心研究證實。以乾式格蘭氏陰性菌鑑定第 2 型檢驗組及傳統試管方法測試的臨床分離菌株與儲存菌株，代表臨床實驗室常規檢驗中預期會遇到的細菌種類。請參考 Microbiologics Information Manual (微生物學資訊手冊) 中的 Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli (乾式 (傳統) 陰性菌檢驗組：需氧格蘭氏陰性桿菌) 部分，瞭解資料庫中完整的微生物清單。

與參考方法一致的百分比

測試數目	鑑定正確數量	鑑定正確百分比 (%)
609	593	97.4

再現性

確立再現性的方式是在多種不同的情況下（例如不同的檢驗組批次、日期、儀器、使用者等）檢測多份重複檢體。其中可能包含 QC 菌株、臨床分離菌株或兩者皆有。整體一致性百分比為 $\geq 95\%$ 。

保證聲明

本系統涵蓋於本系統或其試劑契約協議內，並受其包含的保證聲明的條款限制。客戶需負責執行例行預防性保養程序。若未能按指定時間間隔執行這些保養程序，由此導致的修理工作由貝克曼庫爾特公司決定執行，客戶需自行負擔相應成本。

使用者備註

若發生任何與 MicroScan 試驗組有關的嚴重事件，一律要向貝克曼庫爾特及使用者和 / 或患者所在之會員國的主管機關通報。

修訂歷程記錄

修訂	日期	說明
AA	2022 年 5 月	首次發行
AB	2022 年 12 月	已更新： 再現性

符號釋義

以下符號可能在貝克曼庫爾特微生物產品標籤中使用。

符號釋義			
符號	符號名稱	標準說明	標準品
	請勿重複使用	表示該醫療裝置是供單次使用或供單一患者於單次程序中使用。	ISO 15223-1, 條款 5.4.2
	有效期	表示不應於此日期後使用該醫療裝置。	ISO 15223-1, 條款 5.1.4
	批次號碼	表示用以識別該批次或批號的製造商批次號碼。	ISO 15223-1, 條款 5.1.5
	目錄編號	表示用以識別醫療裝置的製造商目錄編號。	ISO 15223-1, 條款 5.1.6
	製造商	表示醫療裝置的製造商，如 EU 指令 90/385/EEC、93/42/EEC 和 98/79/EC 所定義。	ISO 15223-1, 條款 5.1.1
	製造日期	表示醫療裝置的製造日期。	ISO 15223-1, 條款 5.1.3
	歐洲共同體授權代表	表示歐洲共同體的授權代表。	ISO 15223-1, 條款 5.1.2
	內容物足以執行 <n> 次測試	表示使用 IVD 可執行的 IVD 測試總數。（通常含在試劑套組之上。）	ISO 15223-1, 條款 5.5.5
	體外診斷醫療裝置	表示該醫療裝置是作為一種體外診斷醫療裝置使用。	ISO 15223-1, 條款 5.5.1
	溫度限制	表示可將醫療裝置安全暴露於其中的溫度限制。	ISO 15223-1, 條款 5.3.7
	請參閱使用說明	表示使用者須參閱使用說明。	ISO 15223-1, 條款 5.4.3
	CE 標誌	歐盟認證法規標記	不適用
	目錄	不適用	不適用
	內容物（包裝）	抗菌劑（縮寫）	不適用
	內容物（包裝）	鑑定用受質（縮寫）	不適用
	安全性資料表	表示一份安全性資料表。	不適用
	美國製造	不適用	不適用
	僅供出口	不適用	不適用
	配置體積	不適用	不適用
	易碎品，請輕拿輕放	表示醫療裝置會因未謹慎處理而破裂或損壞。	ISO 15223-1, 條款 5.3.1
	此面朝上	表示正確的直立位置	ISO 7000: 0623

符號釋義			
符號	符號名稱	標準說明	標準品
	本資訊僅適用於美國	表示僅用於在美國出售的產品之資訊。	不適用
	僅供開立處方使用	經美國 FDA 認證，可替代「注意：聯邦法律規定，本裝置僅能根據或遵照持照執業醫師的醫囑銷售」	21CFR 801.109(b)(1)
	生物性危害風險	表示醫療裝置與潛在生物性危害風險有關。註：此符號不應與預計在工作場所使用的「生物危害」標誌混淆。	ISO 15223-1，條款 5.4.1
	危險	不適用	不適用
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：醫療裝置 — 用於醫療裝置標籤的符號、標籤標示及提供的資訊。第一部分：一般要求)。			

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。



MicroScan

Manual procedural pentru ID2 Gram-negative, LabPro ≥ V5.0

REF B1017-27

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Panelul MicroScan negativ de identificare de tip 2 este un dispozitiv medical pentru diagnosticare *in vitro*, destinat determinării calitative a identificării la nivel de specie a bacililor aerobi și facultativ anaerobi Gram-negativi cu creștere rapidă din colonii izolate. Metodele de incubare și determinare a rezultatelor includ un proces complet automatizat pe instrumente WalkAway sau o incubare offline neautomatizată, cu citire pe instrumente autoSCAN-4 sau citire manuală, cu opțiunea de introducere a rezultatelor în sistemul de gestionare a datelor LabPro.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

REZUMAT ȘI PRINCIPIU

După ce panelurile sunt inoculate și rehidratate cu o suspensie standardizată a organismului, acestea sunt incubate minim 16 ore la 35°C. Testele modificate convenționale și cromogene sunt utilizate pentru identificarea bacililor Gram-negativi fermentativi și nefermentativi. Identificarea se bazează pe detectarea schimbărilor nivelului de pH, utilizării de substraturi și creșterea în prezența agenților antimicrobieni după 16–42 de ore de incubare la 35°C.¹

Panel negativ de identificare de tip 2			
Substraturi	Abrev.	Substraturi	Abrev.
Glucoză	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sucroză	SUC	Citrat	CIT
Sorbitol	SOR	Malonat	MAL
Rafinoză	RAF	o-nitrofenil-β-D-galactopiranozidă	ONPG
Ramnoză	RHA	Tartrat	TAR
Arabinoză	ARA	Acetamidă	ACE
Inozitol	INO	Cetrimid	CET
Adonitol	ADO	Glucoză OF	OF/G
Melibioză	MEL	Bază OF	OF/B
Uree	URE	Bază decarboxilază	DCB
Sulfură de hidrogen	H ₂ S	Nitrat	NIT
Indol	IND	Penicilină G 4 µg/ml ¹	P ₄
Lizină	LYS	Kanamycină 4 µg/ml ¹	K ₄
Arginină	ARG	Colistină 4 µg/ml ¹	Cl ₄
Ornitină	ORN	Nitrofurantoină 64 µg/ml ¹	Fd ₆₄
Triptofan deaminază	TDA	Cefalotină 8 µg/ml ¹	Cf ₈
Esculină	ESC	Tobramicină 4 µg/ml ¹	To ₄

1. Antimicrobieni utilizați pentru identificare.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

Rezultatele testului de identificare sunt utilizate împreună cu alte rezultate de laborator și indicatori clinici pentru a optimiza terapia în cazul pacienților simptomatici.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

- Numai pentru utilizarea la diagnosticale *in vitro*.
- Respectați tehnicile aseptice și precauțiile stabilite împotriva pericolelor microbiologice pe parcursul tuturor procedurilor, cu conștientizarea specială a faptului că panelurile inoculate conțin organisme potențial patogene.
- Acest material conține agenți infecțioși și trebuie aruncat în mod corespunzător ca deșeu biologic periculos.
- Rezultatele acestui test trebuie să fie întotdeauna interpretate ținându-se cont de antecedentele medicale, examinările clinice și alte diagnostice ale pacientului.
- Numai de unică folosință. Panelurile și consumabilele MicroScan nu trebuie reutilizate, cu excepția cazului când se menționează altceva (de exemplu, tăvile de acoperire).
- Acest produs conține material(e) de origine animală din medii microbiologice deshidratate. Când manipulați acest produs, respectați regulile generale de securitate referitoare la protecție.

DEPOZITARE

Panelurile Gram-negative uscate trebuie păstrate la 2–25°C.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

DOVADĂ DE DETERIORARE

Expunerea prelungită la alte condiții de păstrare decât cele recomandate poate duce la hidrolizarea substraturilor de identificare. A nu se utiliza după data expirării. Pentru asistență suplimentară, contactați-vă reprezentantul sau distribuitorul Beckman Coulter.

COLECTAREA ȘI PREPARAREA SPECIMENELOR

Eșantioanele adecvate trebuie colectate, transportate și plasate pe mediile de izolare primare în conformitate cu procedurile recomandate în documentul *Manual of Clinical Microbiology* (Manual de microbiologie clinică).²

MATERIALE FURNIZATE

Negativ de identificare tip 2 (B1017-27)

Manual privind procedurile și controlul calității

MATERIALE NECESARE, DAR NEINCLUSE

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

Clorură ferică 10%, 30 ml (B1010-48A) sau 250 ml (B1015-48)

N,N-dimetil-alfa-naftilamină 0,5%, 30 ml (B1010-45A) sau 250 ml (B1015-45)

Hidroxid de potasiu 40%, 30 ml (B1010-43A) sau 250 ml (B1015-43)

Acid sulfanilic 0,8%, 30 ml (B1010-44A) sau 250 ml (B1015-44)

Standard de turbiditate McFarland 0,5

Pipetă de 100 µl

Hârtie pentru etichete cu coduri de bare (B1018-129)

Tăvi de acoperire (B1010-56B)

Echipament general de laborator

Reactiv Kovac, 30 ml (B1010-41A) sau 250 ml (B1015-41)

Fișe pentru secvență manuală (folosite pentru înregistrarea rezultatelor citite manual)

Vizualizator de microdiluție

Ulei mineral, 60 ml (B1010-40)

Ulei mineral, 250 ml (B1010-40A)

Reactiv de oxidază

Organisme pentru controlul calității (consultați secțiunea referitoare la controlul calității (QC) din acest manual)

Formulare de raportare a controlului calității

Kit de picurător de reactiv (B1013-12A)

RENOK – rehidrator/inoculator (B1018-14) sau echivalent

Turbidimetru

Agitator cu turbionare

MATERIALE DE UNICĂ FOLOSINȚĂ

Soluție salină autoclavată 0,85%, 3 ml

Vârfuri de pipetă sterile de unică folosință

Set de inoculatoare-D (B1013-4)

Apă pentru inocul, 3 ml (B1015-2)

Apă pentru inocul cu PLURONIC®, 25 ml (B1015-7)*

Sistem de inoculare Prompt® (B1026-10D)**

Benzi de sigilare (B1010-51)

Capace de tavă WalkAway (B1018-18)

*Surfactanți PLURONIC®. Marcă comercială înregistrată a BASF Corporation, Parsippany, NJ USA.

**3M, St. Paul, MN USA

PROCEDURA

Prepararea panelurilor

1. Scoateți panelurile care trebuie utilizate din spațiul de păstrare. Nu utilizați dacă integritatea ambalajului este compromisă (este desigilat, perforat sau rupt).
2. Tăiați punga și scoateți panelul. Dacă este păstrat în frigider, scoateți imediat panelul din punga de folie.
3. **Panelurile nu trebuie utilizate în oricare dintre următoarele situații:**
 - A. Desicantul nu este prezent sau este rupt.
 - B. Godeurile din paneluri au culoare modificată (de exemplu, DCB, diferiți antimicrobieni).
4. Permiteți panelurilor să ajungă la temperatura camerei înainte de rehidratare. Panelurile pot fi stivuite cu o tavă de acoperire curată pe partea de sus. Toate panelurile deschise trebuie folosite în aceeași zi sau aruncate.

Prepararea inoculului

CLSI recomandă verificarea periodică a densităților de inocul prin numărători de colonii. Pentru recomandări privind numărătorile de colonii, consultați documentul CLSI M07, ediția a 11-a. Rezultatele preconizate pentru *E. coli* ATCC 25922 trebuie să aproximeze îndeaproape valoarea de 5×10^5 UFC/ml pentru concentrațiile finale de testare.³ Utilizatorul trebuie să acorde o atenție deosebită preparării inoculului, în special cu metode manuale care sunt dependente de tehnică, cum ar fi sistemul Prompt sau inoculul preparat fără ajutorul unui dispozitiv fotometric.

1. Tehnica bazată pe standardul de turbiditate – Metoda primară de inoculare

Tehnica bazată pe standardul de turbiditate este recomandată pentru inocularea directă a tuturor bacililor Gram-negativi aerobi.

- A. Folosind un bețișor, o buclă sau un tampon aplicator steril, atingeți suprafața a 4–5 colonii mari sau 5–10 colonii mici similare din punct de vedere morfologic, bine izolate, dintr-o placă de agar neinhibitoare de 18–24 ore.
- B. Emulsificați în 3 ml de apă pentru inocul (apă deionizată în autoclavă).
- C. Strângeți bine capacul și turbionați suspensia timp de 2–3 secunde.
- D. Turbiditatea finală trebuie să fie echivalentă cu cea a unui standard de turbiditate McFarland 0,5. O turbiditate echivalentă poate fi realizată folosind un turbidimetru MicroScan cu un interval de $0,08 \pm 0,02$.
- E. Pipetați 0,1 ml (100 μ l) din suspensia standardizată în 25 ml de apă pentru inocul cu PLURONIC. Strângeți bine capacul. Răsturnați de 8–10 ori pentru amestecare.

2. Sistemul Prompt

Sistemul Prompt poate fi utilizat pentru a inocula bacili Gram-negativi. Pentru a utiliza corect sistemul Prompt, consultați documentul Prompt Inoculation Procedural Manual (Manual de proceduri de inoculare Prompt).

OBSERVAȚIE: utilizați cu atenție. Sub-inocularea poate apărea în cazul organismelor care nu îndeplinesc cerințele privind dimensiunea. Sub-inocularea poate cauza rezultate incorecte ale testului de susceptibilitate și identificare.

Testul de oxidază

Efectuați un test de oxidază înainte de a inocula panelurile. Înregistrați rezultatele în spațiul corespunzător din fișa de lucru sau conform cerințelor instrumentelor. Rezultatele oxidazei sprijină separarea taxonomică și raportarea timpurie a nefermentativilor (de exemplu, complexul *Acinetobacter baumannii*). În cazul sistemelor WalkAway, se recomandă introducerea rezultatelor de oxidază înainte de imprimarea codurilor de bare. Unii nefermentativi se pot menține până la 42 de ore, în funcție de creștere. Reactivul de oxidază recomandat este dihidroclorura de tetrametil-p-fenilen-diamină.

Rehidratarea/inocularea panelurilor

Rehidratarea și inocularea sunt efectuate utilizând sistemul RENOK cu seturi Inoculators-D (B1013-4). Pentru utilizare, consultați RENOK Operator's Manual (Manualul operatorului RENOK). Dacă este utilizat un sistem alternativ, rehidratați cu $115 \mu\text{l} \pm 10 \mu\text{l}$ de apă pentru inocul cu PLURONIC. Trebuie realizată o concentrație finală a godeului de $3\text{--}7 \times 10^5$ UFC/ml. Pentru a asigura viabilitatea și puritatea organismului testat, trebuie pregătită o placă de puritate prin strecurarea inoculului pe o placă de agar adecvată și incubarea în condiții adecvate. Dacă pe placa de puritate sunt prezente două sau mai multe tipuri de colonii, reisolați coloniile și retestați.

Acoperirile biochimice

1. Utilizați un flacon cu picurător pentru a acoperi godeurile GLU, URE, H_2S , LYS, ARG, ORN și DCB cu 3 picături de ulei mineral. Aceste godeuri sunt subliniate pe panel.
2. Mediile din godeuri trebuie să fie complet acoperite cu ulei mineral, însă uleiul nu trebuie să se reverse din godeuri.

OBSERVAȚIE: sistemele WalkAway (și sistemele WalkAway cu upgrade pentru funcția de acoperire automată cu ulei) adaugă automat ulei în godeurile corespunzătoare.

Banda de sigilare

Numai pentru organisme Gram-negative pozitive la oxidază, plasați o bandă de sigilare peste godeurile CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B și DCB. Orificiul de localizare de un sfert de inch din bandă trebuie să fie aliniat peste godeul DCB. În cazul sistemelor WalkAway, capacul este folosit în locul unei benzi de sigilare.

Incubarea

1. Panelurile pot fi incubate într-un sistem WalkAway sau incubate off-line folosindu-se următoarele etape:
 - A. Pentru a asigura o distribuție termică uniformă în timpul incubării, stivuiți panelurile în grupuri de 3–5.
 - B. Plasați o tavă de acoperire curată pe fiecare grup de paneluri pentru a preveni evaporarea. Tăvile de acoperire pot fi reutilizate. Nu decontaminați tăvile de acoperire cu alcool. Acestea pot fi curățate cu săpun și apă. Clătiți bine și lăsați să se usuce la aer.
 - C. Incubați panelurile timp de cel puțin 16 ore la temperatura de 35°C într-un incubator non-CO₂.

Citirea panelurilor

Panelurile pot fi citite manual, iar rezultatele pot fi înregistrate într-o fișă de lucru manuală privind panelul sau pe instrumente MicroScan (sistemele autoSCAN-4 și WalkAway). Pentru citirea panelurilor cu instrumente MicroScan, consultați Ghidul operatorului.

1. După 16–20 de ore de incubare, scoateți panelurile din incubator.
2. Ștergeți partea inferioară a panelului cu o cârpă fără scame pentru a elimina orice condens sau resturi care pot fi prezente.
3. Citiți panelurile numai dacă godeul de control este limpede și godeul de creștere este tulbure. Nu citiți panelul dacă godeul de control este tulbure sau dacă nu există o creștere în godeul de creștere. Turbiditatea poate apărea ca o ceață albă în întregul godeu, o pastilă albă în centrul godeului sau o creștere granulară fină în întregul godeu. Creșterea inadecvată sau absența creșterii este definită ca ușoară colorare în alb în godeu sau limpezimea bulionului.
4. Dacă rezultatele sunt citite manual, înregistrați-le pe fișa de lucru corespunzătoare.

5. Citirea substraturilor de identificare

- A. Citiți toate substraturile de identificare pe un fundal alb, exceptând CET și antimicrobienii utilizați pentru identificare (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), care trebuie citite pe un fundal negru (luminat indirect).
- B. Următoarele substraturi se citesc întotdeauna după 16–24 de ore: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Dacă oricare dintre următoarele condiții este adevărată:
 - a. GLU- sau SUC- sau SOR-pozitiv ori
 - b. ARG-pozitiv și OF/G-pozitiv sau
 - c. ARG-pozitiv și CET-pozitiv sau
 - d. LYS-pozitiv sau
 - e. ORN-pozitiv sau
 - f. OXI-negativ și OF/G-pozitiv și Fd₆₄-pozitiv și MAL-pozitiv.

Apoi adăugați reactivi și citiți substraturile rămase după 16–24 de ore de incubare. Dacă niciuna dintre condițiile de mai sus nu este adevărată, reincubați panelurile pentru încă 24 de ore înainte de adăugarea reactivilor și citirea substraturilor rămase.

- D. Dacă, după reincubare, organismul apare în continuare nereactiv, verificați dacă organismul a crescut în carbohidrații de roșu de fenol (mai ales dacă există o creștere slabă sau nu există o creștere în controlul de creștere Mueller-Hinton). Dacă nu există o creștere în carbohidrații de roșu de fenol, trebuie suspectat un organism fastidios, cum ar fi o specie *Vibrio* halofilă. Trebuie repetată o colorare Gram pentru confirmarea Gram-negativității.
 - a. Dacă suspectați o boală semnificativă clinic cauzată de specii de *Vibrio* halofile, retestați emulsifiind câteva colonii în 3,0 ml de soluție salină sterilă 0,85% și efectuați teste suplimentare, inclusiv creștere în sare, cum vă recomandă software-ul. Turbiditatea finală trebuie să fie echivalentă cu cea a unui standard de turbiditate McFarland 0,5. O turbiditate echivalentă poate fi realizată folosind un turbidimetru MicroScan cu un interval de 0,08 ± 0,02. Rehidratați panelul cu 25 ml de apă pentru inocul neinoculată cu PLURONIC folosind RENOK. Folosind o pipetă de transfer sterilă, adăugați o picătură (45–50 μl) de suspensie salină în fiecare godeu de identificare, inclusiv godeurile de creștere, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ și Fd₆₄. Respectați toate celelalte etape de procesare a panelurilor.
- E. Înainte de citire, adăugați reactivii după cum urmează:
 - a. Adăugați 1 picătură de hidroxid de potasiu (KOH) 40% și 1 picătură de alfa-naftol 5% în godeul VP. Așteptați cel puțin 20 minute pentru ca reacția VP să se dezvolte.
 - b. Adăugați 1 picătură de clorură ferică 10% în godeul TDA. Culoarea se va dezvolta imediat.

- c. Adăugați 3 picături de reactiv MicroScan Kovac în godeul IND. Culoarea se va dezvolta imediat.
- OBSERVAȚIE:** reactivul MicroScan Kovac este o formulă specială concepută a fi utilizată cu instrumente MicroScan. Este necesară o singură picătură dacă panelurile sunt citite manual.
- d. Adăugați 1 picătură de acid sulfanilic 0,8%, apoi 1 picătură de N,N-dimetil-alfa-naftilamină 0,5% în godeul NIT. Așteptați cel puțin 5 minute înainte de citire pentru ca reacția NIT să se dezvolte.
- F. Consultați secțiunea REZULTATE pentru ajutor în interpretarea biochimică.

REZULTATE

1. Interpretări biochimice

Godeu	Reactiv	Pozitivă	Negativ
GLU		Numai galben intens	Portocaliu spre roșu
		Unii nefermentativi pot produce o culoare aurie, care trebuie considerată rezultat negativ.	
SUC		Galben spre galben/portocaliu	Portocaliu spre roșu
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Magenta spre roz	Galben, portocaliu sau roz deschis
H ₂ S		Precipitat negru sau pastilă neagră	Absență înnegrire
IND	Adăugați 3 picături (sau o picătură dacă panelul este citit vizual) de reactiv Kovac MicroScan. Culoarea se dezvoltă imediat.	Roz spre roșu	Galben pal spre portocaliu
		Providencia sp. poate produce un inel roz pal, care trebuie considerat rezultat pozitiv.	
Comparați LYS, ARG și ORN cu DCB. Pentru ca rezultatele să fie valide, aceste godeuri trebuie acoperite cu ulei. Culoarea violetă este considerată rezultat pozitiv atunci când se compară cu un godeu DCB gri. Culoarea gri este considerată rezultat pozitiv atunci când se compară cu un godeu DCB galben. Pentru nefermentativi, un test pozitiv trebuie să fie semnificativ mai violet decât controlul de bază. În cazul în care controlul de bază este violet, mediul bazal a fost alcalinizat, iar LYS, ARG și ORN trebuie înregistrate ca rezultate negative. Această tendință o prezintă specia Achromobacter și Ochrobactrum anthropi.			
LYS		Violet spre gri	Fermentativi: Galbenă
ARG			Nefermentativi:
ORN		Violet	Incolor spre gri
TDA	Adăugați 1 picătură de clorură ferică 10%. Culoarea se dezvoltă imediat.	Orice nuanță de brun	Galben spre portocaliu
ESC		Brun deschis spre negru	Bej spre incolor
VP	Adăugați 1 picătură de KOH 40% și 1 picătură de alfa-naftol 5%. Așteptați cel puțin 20 minute pentru ca reacția să se dezvolte.	Roșie	Incoloră
		Unii nefermentativi pot produce o culoare roz pal după 18 ore de incubare, care trebuie considerată rezultat negativ.	
ONPG		Galbenă	Incoloră
		Comparați orice godeu ONPG care arată clar cu godeul cu cetrimidă. Dacă godeul ONPG prezintă orice nuanță de galben comparativ cu godeul cu cetrimidă, înregistrați rezultatul ca pozitiv.	
CIT		Albastru spre albastru-verde	Verde spre galben
MAL		Orice nuanță de albastru este considerată rezultat pozitiv	
TAR			
ACE			
CET		Crestere	Crestere absentă

Godeu	Reactiv	Pozitivă	Negativ
OF/G		Galbenă	Dacă baza OF este verde: Verde spre albastru
		Galben spre verde	Dacă baza OF este albastră sau albastră spre verde: Albastră
		Comparați godeul OF/G cu controlul de bază OF.	
NIT	Adăugați 1 picătură de acid sulfanilic 0,8%, apoi 1 picătură de N,N-dimetil-alfa-naftilamină 0,5%. Așteptați cel puțin 5 minute pentru ca reacția să se dezvolte.	Roșie	Incolor spre roz pal
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Creștere (rezistent)	Creștere absentă (sensibilitate)
LOC	Numai pentru recunoașterea panelurilor sistemelor autoSCAN-4 și WalkAway.		

2. Principiile reacțiilor de identificare

Fermentarea carbohidraților (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): fermentarea anumitor carbohidrați rezultă în formarea de acid și în detectarea unei scăderi a nivelului de pH de către indicatorul roșu de fenol.

Uree (URE): enzima de urează scindează ureea formând amoniac. Creșterea nivelului de pH rezultantă este detectată de indicatorul roșu de fenol.

Hidrogen sulfurat (H₂S): gazul de hidrogen sulfurat este produs din tiosulfatul de sodiu și reacționează cu ionii ferici din mediu pentru a produce un precipitat negru.

Indol (IND): metabolismul triptofanului rezultă în formarea de indol, care este detectat prin adăugarea reactivului Kovac's. Dacă indolul este prezent, se formează culoarea roșie.

Lizină, arginină, ornitină (LYS, ARG, ORN): decarboxilarea acestor aminoacizi rezultă în formarea aminelor bazice care sunt detectate prin indicatorul violet de bromcrezol.

Triptofan-deaminază (TDA): bacteriile care pot dezamina triptofanul produc acid indolpiruvic care, după adăugarea de clorură ferică, reacționează cu citratul feric de amoniu în mediu, pentru a produce culoarea maro.

Hidroliza esculinei (ESC): hidroliza esculinei este detectată prin citratul feric de amoniu din mediu, care reacționează cu produsele hidrolitice pentru a forma un precipitat negru.

Voges-Proskauer (VP): acetoina este produsă din piruvat de sodiu și este indicată de formarea culorii roșii după adăugarea de 40% de hidroxid de potasiu și 5% de alfa-naftol.

Galactozidază (ONPG): β-galactozidaza hidrolizează orto-nitrofenil-β-D-galactopiranozida care eliberează orto-nitrofenolul de culoare galbenă.

Citrat, malonat, acetamidă, tartrat (CIT, MAL, ACE, TAR): utilizarea acestor substraturi ca sursă unică de carbon pentru metabolism rezultă într-o creștere a nivelului de pH care este detectată de indicatorul albastru de bromtimol.

Oxidare-fermentare (OF/G): oxidarea glucozei rezultă în formarea de acid și în detectarea scăderii nivelului de pH de către indicatorul albastru de bromtimol. Rezultatul testului OF/G este comparat cu rezultatul testului OF/B (bază) pentru a determina dacă s-a produs acid.

Nitrat (NIT): Capacitatea unui organism de a reduce nitratul la nitrit este detectată prin adăugarea de N, N-dimetil-alfa-naftilamină și acid sulfanilic care produc o culoare roșie în prezența nitritului.

Cetrimidă (CET): toleranța la cetrimidă este indicată de creșterea în bulion Mueller-Hinton suplimentat cu cetrimidă.

Penicilină, canamicină, colistin, cefalotin, nitrofurantoină, tobramicină (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): rezistența la anumite concentrații din acești agenți antimicrobieni este demonstrată prin creștere.

3. Identificarea organismelor

Folosiți programul Biotype Lookup Program din instrumentul de gestionare a informațiilor LabPro și de pe site-ul Beckman Coulter pentru identificarea organismelor testate necunoscute. Programul afișează identificarea organismului și probabilitățile relative, în ordinea celei mai mari probabilități, până la un total cumulat de 99,9%.

Dacă obțineți un număr de biotip care are drept rezultat „Very Rare Biotype” (Biotip foarte rar), consultați programul software LabPro [Utilities (Utilitare)>System (Sistem)>Biotype Lookup (Căutare biotipuri)], programul Biotype Lookup Program pe site-ul Beckman Coulter sau reprezentantul sau distribuitorul dvs. Beckman Coulter.

LIMITARE A PROCEDURII

1. *Haemophilus* și alte bacterii Gram-negative fastidioase nu vor crește în bulion Mueller-Hinton care nu este suplimentat cu factori pentru stimularea creșterii.
2. Procedurile descrise aici sunt adecvate numai pentru bacili Gram-negativi aerobi și anaerobi facultativi.
3. Pot fi necesare teste suplimentare pentru a determina identificarea finală atunci când se obține o identificare cu probabilitate scăzută (< 85%) (consultați MicroScan Biotype Lookup Program (Programul de căutare a biotipurilor MicroScan) sau Microbiology Manual (Manualul de microbiologie)).
4. Interpretarea rezultatelor testelor trebuie efectuată de personal clinic instruit, care va apela la capacitatea sa de a decide, la cunoștințele sale și la teste de confirmare suplimentare, când acestea sunt necesare, înainte de a accepta identificarea unui organism.
5. Numerele biotipurilor nu trebuie utilizate pentru identificarea fenotipică a tulpinilor izolate din diferite eșantioane de la același pacient.
6. Autoritățile din domeniul sănătății publice trebuie să fie notificate cu privire la toate izolatele prezumtiv identificate ca *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* sau *F. tularensis*. Confirmarea izolatelor din aceste bacterii poate necesita testare specializată, disponibilă numai în laboratoarele de referință sau de sănătate publică.

CONTROLUL CALITĂȚII

Acceptabilitatea mediilor de identificare trebuie verificată prin testarea unor organisme cu reacții cunoscute. Rezultatele pentru organismele de control recomandate de American Type Culture Collection (ATCC) sunt indicate în tabelul următor.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Albastru, verde-albăstrui, verde	Albastru, verde-albăstrui	Albastru, verde-albăstrui, verde	Albastru, verde-albăstrui, verde
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Gri spre galben	Gri spre gri-gălbui	Galbenă	N/A
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	N/A
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	N/A
To ₄ ²	-	-	-	N/A

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Consultați tabelul privind testarea suplimentară pentru reacțiile suplimentare pozitive sau negative, după cum este necesar pentru fiecare substanță biochimică.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 poate produce o culoare roz-deschisă în godeul VP după 18 ore de incubare, ceea ce trebuie interpretat ca rezultat negativ.

4. O reacție pozitivă slabă poate fi obținută cu *E. coli* ATCC 25922 dacă panelurile sunt incubate timp de peste 18 ore.

5. Poate necesita o incubare de 48 de ore.

N/A = Nu este cazul

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

OBSERVAȚIE: organismele pentru controlul calității sunt selectate pentru furnizarea de reacții pozitive/negative pentru toate substraturile de identificare. Ca urmare, identificările de organism pot să difere de cea indicată în diagrama QC. Acceptabilitatea performanțelor produsului trebuie determinată prin compararea rezultatelor testelor, nu a identificării.

Tabelul privind testarea suplimentară

Organism	Substrat	Rezultate preconizate
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. haliotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Identificarea uscată Gram-negativă – QC de identificare optimizată ¹					
Organism QC	Număr ATCC	Substrat indicator-cheie	Rezultate preconizate	Rezultat în afara specificației	Substrat instabil
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Da
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Da

1. Indicatorii-cheie pentru controlul calității sunt furnizați pentru un program QC optimizat, conform documentului CLSI M50-A.⁴ Înainte de implementarea programului QC optimizat, consultați documentul M50-A pentru detalii și consultați-vă cu agențiile de reglementare aplicabile și grupurile de inspecție pentru a confirma acceptabilitatea.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Performanțele revendicate pentru panelul uscat de identificare Gram-negativă MicroScan au fost stabilite într-un studiu multicentric. Izolatele clinice și tulpinile comune au fost testate pe panelul uscat de identificare negativă de tip 2 și cu metodologii convenționale cu eprubete pentru a reprezenta tipul de populație bacteriană așteptat într-un laborator clinic de rutină. Pentru o listă completă a organismelor incluse în baza de date, consultați secțiunea Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli (Paneluri uscate (convenționale) negative: bacili aerobi Gram-negativi) din documentul Microbiology Information Manual (Manual de informații de microbiologie).

Acord procentual cu metoda de referință

Nr. testat	Nr. cu identificare corectă	% Identificare corectă
609	593	97,4

REPRODUCTIVITATE

Reproductibilitatea este stabilită prin testarea mai multor replicări în condiții diferite (de ex. loturi de panel, zile, instrumente, utilizatori). Poate include tulpini QC, izolate clinice sau ambele. Concordanța generală era ≥ 95%.

DECLARAȚIE DE GARANȚIE

Sistemul beneficiază de garanția inclusă în acordul dvs. contractual pentru sistem sau reactivii acestuia și face obiectul prevederilor acesteia. Clientul este responsabil pentru procedurile de întreținere preventive de rutină. Reparațiile rezultate în urma neefectuării acestor proceduri de întreținere la intervalele de timp indicate vor fi efectuate la discreția Beckman Coulter și pe cheltuiala clientului.

NOTIFICARE CĂTRE UTILIZATOR

Orice incident grav apărut în raport cu panelurile MicroScan va fi raportat către Beckman Coulter și autoritatea competentă a statului membru în care sunt stabiliți utilizatorul și/sau pacientul.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIE	DATA	DESCRIERE
AA	Mai 2022	Eliberare inițială
AB	Decembrie 2022	Actualizări: Reproductibilitate

Cheie simboluri

Următoarele simboluri pot fi utilizate în etichetarea produselor de microbiologie Beckman Coulter.

Cheie simboluri			
Simbol	Titlu simbol	Descrierea standardului	Standard
	Nu reutilizați	Indică un dispozitiv medical care este destinat pentru o singură utilizare sau pentru utilizare pe un singur pacient în timpul unei singure proceduri.	ISO 15223-1, clauza 5.4.2
	Data expirării	Indică data după care dispozitivul medical nu mai trebuie utilizat.	ISO 15223-1, clauza 5.1.4
	Cod de lot	Indică codul de lot al producătorului pentru identificarea lotului sau seriei.	ISO 15223-1, clauza 5.1.5
	Număr catalog	Indică numărul de catalog al producătorului pentru identificarea dispozitivului medical.	ISO 15223-1, clauza 5.1.6
	Producător	Indică producătorul dispozitivului medical așa cum este definit în Directivele UE 90/385/CEE, 93/42/CEE și 98/79/CE.	ISO 15223-1, clauza 5.1.1
	Data fabricației	Indică data fabricării dispozitivului medical.	ISO 15223-1, clauza 5.1.3
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană	Indică reprezentantul autorizat în Comunitatea Europeană.	ISO 15223-1, clauza 5.1.2
	Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste	Indică numărul total de teste IVD care pot fi efectuate cu IVD-ul. (Mențiunea apare, de obicei, pe seturile de reactivi).	ISO 15223-1, clauza 5.5.5
	Dispozitiv medical pentru diagnosticare in vitro	Indică un dispozitiv medical destinat utilizării ca dispozitiv medical de diagnosticare in vitro.	ISO 15223-1, clauza 5.5.1
	Limitare de temperatură	Indică limitele de temperatură la care dispozitivul poate fi expus în siguranță.	ISO 15223-1, clauza 5.3.7
	Consultați Instrucțiunile de utilizare	Indică necesitatea consultării instrucțiunilor de utilizare de către utilizator.	ISO 15223-1, clauza 5.4.3
	Marcaj CE	Marcaj de reglementare Conformitate europeană	N/A
	Cuprins	N/A	N/A
	Conținut (ambalaj)	Agent antimicrobian (abreviere)	N/A
	Conținut (ambalaj)	Substrat de identificare (abreviere)	N/A
	Fișă tehnică de securitate	Indică o fișă tehnică de securitate.	N/A
	Fabricat în SUA	N/A	N/A
	Numai pentru utilizare de export	N/A	N/A
	Volum de reconstituire	N/A	N/A
	Fragil, manipulați cu grijă	Indică un dispozitiv medical care se poate sparge sau poate fi deteriorat dacă nu este manipulat cu atenție.	ISO 15223-1, clauza 5.3.1
	Cu această parte în sus	Indică poziția verticală corectă	ISO 7000: 0623
	Informații numai pentru SUA	Indică informațiile necesare numai pentru produsele destinate a fi vândute în SUA.	N/A
	Exclusiv pentru utilizare pe bază de prescripție	Recunoscut de către FDA din SUA ca alternativă pentru „Atenție: legislația federală restricționează vânzarea acestui dispozitiv numai de către sau la comanda unui practician licențiat”	21CFR 801.109(b)(1)
	Riscuri de natură biologică	Indică faptul că există potențiale riscuri de natură biologică asociate cu dispozitivul medical. Observație: Acest simbol nu trebuie confundat cu semnul „pericol biologic” destinat utilizării în spațiul de lucru.	ISO 15223-1, clauza 5.4.1
	Pericol	N/A	N/A
ISO 15223-1: Medical Devices – Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Dispozitive medicale – Simboluri pentru utilizare cu etichete de dispozitive medicale, etichetare și informații care trebuie furnizate. Partea 1: Cerințe generale).			

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

MicroScan

Proceduralno uputstvo za gram negativni ID2, LabPro ≥V5.0

REF B1017-27

NAMENA

MicroScan neg ID panel tip 2 je *in vitro* dijagnostičko medicinsko sredstvo namenjeno za kvalitativno određivanje identifikacije na nivou vrste za brzorastuće aerobne i fakultativno anaerobne gram negativne bacile iz izolovanih kolonija. Metode za inkubaciju i određivanje rezultata uključuju potpunu automatizaciju na WalkAway instrumentima ili neautomatizovanu ručnu inkubaciju van mreže sa čitanjem na autoSCAN-4 instrumentu ili ručnim čitanjem sa opcijom unosa rezultata u LabPro sistem za upravljanje podacima.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za stručnu upotrebu u laboratoriji.

KRATAK PREGLED I PRINCIP

Nakon što se paneli inokuliraju i rehidriraju sa standardizovanom suspenzijom organizma, inkubiraju se najmanje 16 sati na 35°C. Modifikovani konvencionalni i hromogeni testovi koriste se za identifikaciju fermentativnih i nefermentativnih gram negativnih bacila. Identifikacija se zasniva na detekciji promena pH vrednosti, upotrebi supstrata i rastu u prisustvu antimikrobnih agenasa nakon 16–42 sata inkubacije na 35°C.¹

Neg. ID panel tipa 2			
Supstrati	Skr.	Supstrati	Skr.
Glukoza	GLU	Voges-Proskauer	VP
Saharoza	SUC	Citrat	CIT
Sorbitol	SOR	Malonat	MAL
Rafinoza	RAF	o-Nitrofenil-β-D-galaktopiranozid	ONPG
Ramnoza	RHA	Tartrat	TAR
Arabinoza	ARA	Acetamid	ACE
Inozitol	INO	Cetrimid	CET
Adonitol	ADO	OF glukoza	OF/G
Melibioza	MEL	OF baza	OF/B
Urea	URE	Baza dekarboksilaze	DCB
Vodonik sulfid	H ₂ S	Nitrat	NIT
Indol	IND	Penicilin G 4 µg/ml ¹	P ₄
Lizin	LYS	Kanamycin 4 µg/ml ¹	K ₄
Arginin	ARG	Kolistin 4 µg/ml ¹	Cl ₄
Ornitin	ORN	Nitrofurantoin 64 µg/ml ¹	Fd ₆₄
Triptofan deaminaza	TDA	Cefalotin 8 µg/ml ¹	Cf ₈
Eskulin	ESC	Tobramycin 4 µg/ml ¹	To ₄

1. Antimikrobne supstance koje se koriste za identifikaciju.

KLINIČKI ZNAČAJ

Rezultati testa identifikacije koriste se zajedno sa ostalim laboratorijskim rezultatima i kliničkim indikatorima za poboljšanje terapije kod simptomatskih pacijenata.

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. Samo za jednokratnu upotrebu. MicroScan paneli i potrošni materijali ne treba ponovo da se koriste osim ukoliko nije naznačeno drugačije (npr. tacne sa poklopcem).
6. Ovaj proizvod sadrži materijal(e) životinjskog porekla iz dehidrirane mikrobiološke podloge. Pridržavati se opštih smernica za bezbednost radi zaštite pri rukovanju ovim proizvodom.

ČUVANJE

Isušeni gram negativni paneli moraju se čuvati na temperaturi od 2 do 25°C.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

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).²

ISPORUČENI MATERIJALI

Neg. ID tipa 2 (B1017-27)

Procedural and Quality Control Manual (Proceduralno uputstvo i uputstvo za kontrolu kvaliteta)

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

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

10% gvožđe hlorid, 30 ml (B1010-48A) ili 250 ml (B1015-48)

0,5% N, N-dimetil-alfa-naftilamin, 30 ml (B1010-45A) ili 250 ml (B1015-45)

40% kalijum hidroksid, 30 ml (B1010-43A) ili 250 ml (B1015-43)

0,8% sulfanilna kiselina, 30 ml (B1010-44A) ili 250 ml (B1015-44)

Mekfarlandov standard zamućenosti 0,5

Pipetor od 100 µl

Papir za bar kod nalepnice (B1018-129)

Posude za pokrivanje (B1010-56B)

Opšta laboratorijska oprema

Kovačev reagens, 30 ml (B1010-41A) ili 250 ml (B1015-41)

Radni listovi panela (koriste se za beleženje ručno očitanih rezultata)

Prikazivač mikrorastvaranja

Mineralno ulje, 60 ml (B1010-40)

Mineralno ulje, 250 ml (B1010-40A)

Reagens za oksidazu

Organizmi za kontrolu kvaliteta (pogledajte odeljak QC u ovom priručniku)

Obrasci izveštaja za kontrolu kvaliteta

Komplet za sipanje reagensa (B1013-12A)

RENOK – Rehidrator/Inokulator (B1018-14) ili ekvivalentni

Merač zamućenosti

Vrtložna mešalica

MATERIJALI ZA JEDNOKRATNU UPOTREBU

0,85% autoklaviran fiziološki rastvor, 3 ml

Sterilni vrhovi pipeta za jednokratnu upotrebu

Komplet inokulatora-D (B1013-4)

Voda za inokulum, 3 ml (B1015-2)

Voda za inokulum sa PLURONIC®, 25 ml (B1015-7)*

Prompt® inokulacioni sistem (B1026-10D)**

Zaptivne trake (B1010-51)

*PLURONIC® surfaktanti. Registrovani žig kompanije BASF Corporation, Parsippany, NJ USA.

**3M, St. Paul, MN USA

POSTUPAK

Priprema panela

1. Izvadite panele koji će biti korišćeni iz skladišta. Nemojte koristiti ako je celovitost ambalaže ugrožena (otpečaćena, probušena ili pocepana).
2. Isecite kesicu i izvadite panel. Ako je čuvan u frižideru, odmah izvadite panel iz kesice sa folijom.
3. **Paneli se ne smeju koristiti u prisustvu bilo kojeg od sledećih uslova:**
 - A. Desinkant nije prisutan ili je slomljen.
 - B. Bunarčići panela su bezbojni (npr., DCB, razni antimikrobici).
4. 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.

Priprema inokuluma

CLSI preporučuje povremenu proveru gustina inokuluma putem prebrojavanja kolonija. Pogledajte CLSI dokument M07, 11. izdanje za preporuke u vezi sa probrojavanjem kolonija. Očekivani rezultati za *E. coli* ATCC 25922 trebalo bi da su veoma bliski 5×10^5 CFU/ml za konačne test koncentracije.³ 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.

1. Standardna tehnika zamućenja - primarni metod inokuluma

Standardna tehnika zamućenja se preporučuje za direktnu inokulaciju svih aerobnih gram-negativnih bacila.

- A. 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.
- B. Emulgovati u 3 ml vode za inokulum (autoklavirana dejonizovana voda).
- C. Čvrsto zatvorite i izmešajte suspenziju u vrtložnoj mešalici 2–3 sekunde.
- D. Konačna zamućenost treba da bude ekvivalentna onoj Mekfarlandovog standarda zamućenosti 0,5. Ekvivalentna zamućenost može se postići upotrebom MicroScan merača zamućenosti sa opsegom od $0,08 \pm 0,02$.
- E. 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 se može koristiti za inokulaciju gram-negativnih bacila. 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 osetljivosti i identifikacije.

Oksidaza test

Obavite test oksidaze pre inokuliranja panela. Zabeležite rezultate u odgovarajući prostor na radnom listu ili prema zahtevima instrumenata. Rezultati oksidaze podržavaju odvajanje takse i rano izdavanje nefermentora (npr., *Acinetobacter baumannii* kompleks). Kod WalkAway sistema, preporučuje se unos rezultata za oksidazu pre štampanja bar kodova. Neki nefermentori mogu da se zadrže do 42 sata, u zavisnosti od rasta. Preporučeni reagens za oksidazu je tetrametil-p-fenilen-diamin-dihidrohlorid.

Rehidracija/inokulacija panela

Rehidracija 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 rehidraciju sa $115 \mu\text{l} \pm 10 \mu\text{l}$ vode za inokulum sa sredstvom PLURONIC. Potrebno je postići konačnu koncentraciju u bunarčiću od $3\text{--}7 \times 10^5$ CFU/ml. Da bi se obezbedile održivost i čistoća testiranog organizma, potrebno je pripremiti čistu ploču nanošenjem inokuluma na odgovarajuću agar ploču i inkubiranjem u odgovarajućim uslovima. Ako je na čistoj ploči prisutno dva ili više tipova kolonija, ponovo izolujte kolonije i ponovo ih testirajte.

Biohemijska prekrivanja

1. Kapalicom prekrijte GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN i DCB bunarčiće sa 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 sistemi (i WalkAway sistemi nadograđeni automatskom funkcijom prekrivanja uljem) automatski dodaju ulje u odgovarajuće bunarčiće.

Zaptivna traka

Samo za oksidaza pozitivne gram-negativne organizme, postavite zaptivnu traku preko CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B i DCB bunarčića. Otvor za lociranje veličine četvrtine inča na traci treba da bude poravnat preko DCB bunarčića. Kod WalkAway sistema, poklopac se koristi umesto zaptivne trake.

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 poklopac posude na svaku grupu panela da biste sprečili isparavanje. Poklopci posuda se moraju ponovo koristiti. Nemojte dekontaminirati poklopce posuda alkoholom. Mogu se čistiti sapunicom i vodom. Dobro isperite i pustite da se osuši na vazduhu.
 - C. Inkubirajte panele najmanje 16 sati na 35°C u ne-CO₂ inkubatoru.

Čitanje panela

Paneli se mogu čitati ručno, a rezultati se mogu beležiti na ručnim radnim listovima panela ili na MicroScan instrumentima (autoSCAN-4 i WalkAway sistemi). U 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 rast zamućen. Nemojte čitati panel ako je kontrolni bunarčić zamućen ili ako ne postoji rast u bunarčiću za rast. Zamućenost može imati oblik bele izmaglice u celom bunarčiću, belog dugmeta u centru bunarčića ili fino granulisanog rasta u celom bunarčiću. Neadekvatan ili nikakav 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 CET i antimikrobne supstance koje se koriste za identifikaciju (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) koje treba čitati na crnoj (indirektno osvetljenoj) pozadini.
 - B. Sledeći supstrati se uvek čitaju nakon 16–24 sati: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
 - C. Ako je bilo šta od sledećeg tačno:
 - a. GLU ili SUC ili SOR pozitivno, ili
 - b. ARG pozitivno i OF/G pozitivno, ili
 - c. ARG pozitivno i CET pozitivno, ili
 - d. LYS pozitivno, ili
 - e. ORN pozitivno, ili
 - f. OXI negativno i OF/G pozitivno i Fd₆₄ pozitivno i MAL pozitivno.

Zatim dodajte reagense i pročitajte preostale supstrate u periodu od 16–24 sata inkubacije. Ako nijedan od gore navedenih uslova nije istinit, ponovno inkubirajte panele dodatna 24 sata pre dodavanja reagenasa i čitanja preostalih supstrata.

- D. Ako, nakon ponovljene inkubacije, organizam i dalje izgleda kao nereaktivan, proverite da li je organizam pokazao rast u fenol crvenim ugljenim hidratima (posebno ako postoji loš rast ili nema rasta u Mueller-Hinton kontroli rasta). Ako nema rasta u fenol crvenim ugljenim hidratima, treba posumnjati na zahtevan organizam kao što su halofilne *Vibrio* vrste. Gram bojenje treba ponoviti da bi se potvrdilo da je gram-negativno.
 - a. Ako se sumnja na klinički značajno oboljenje zbog halofilnih *Vibrio* vrsta, ponovo testirajte emulgovanje nekoliko kolonija u 3,0 ml sterilnog 0,85% fiziološkog rastvora i obavite dodatno testiranje uključujući rast u soli, kao što preporučuje softver. Konačna zamućenost treba da bude ekvivalentna onoj Mekfarlandovog standarda zamućenosti 0,5. Ekvivalentna zamućenost može se postići korišćenjem MicroScan merača zamućenosti sa opsegom od 0,08 ± 0,02. Izvršite rehidrataciju panela sa 25 ml neinokulisane vode za inokulum sa PLURONIC koristeći RENOK sistem. Koristeći sterilnu pipetu za prenos, dodajte jednu kap (45–50 µl) suspenzije fiziološkog rastvora u svaki bunarčić za identifikaciju, uključujući bunarčiće za rast, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ i Fd₆₄. Treba pratiti sve druge korake za obradu panela.
- E. Pre čitanja dodajte reagense na sledeći način:

- Dodajte 1 kap 40% kalijum hidroksida (KOH) i 1 kap 5% alfa naftola u bunarčić sa VP. Sačekajte najmanje 20 minuta da se VP reakcija razvije.
- Dodajte 1 kap 10% gvožđe hlorida u bunarčić sa TDA. Boja će se razviti odmah.
- Dodajte 3 kapi MicroScan Kovačevog reagensa u bunarčić sa IND. Boja će se razviti odmah.
NAPOMENA: MicroScan Kovačev reagens je specijalna formula namenjena za upotrebu sa MicroScan instrumentima. Ako se paneli čitaju ručno, potrebno je koristiti samo jednu kap.
- Dodajte 1 kap 0,8% sulfinske kiseline, zatim 1 kap 0,5% N, N-dimetil-alfa-naftilamina u bunarčić sa NIT. Sačekajte najmanje 5 minuta pre čitanja da se NIT reakcija razvije.

F. Pogledajte odeljak REZULTATI koji pomaže u biohemijskom tumačenju.

REZULTATI

1. Biohemijska tumačenja

Bunarčić	Reagens	Pozitivno	Negativno
GLU		Samo jaka žuta	Narandžasta do crvena
		Neki nefermentori mogu proizvesti zlatnu boju koju treba smatrati negativnom.	
SUC		Žuta do žuta/narandžasta	Narandžasta do crvena
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Cijan do ružičasta	Žuta, narandžasta ili svetlo ružičasta
H ₂ S		Crni talog ili crno dugme	Nema pocrnjenja
IND	Dodajte 3 kapi (ili jednu kap ako se panel čita vizuelno) MicroScan Kovačevog reagensa. Boja se odmah razvija.	Ružičasta do crvena	Bledo žuta do narandžasta
		Providencia sp. može stvoriti bledo ružičasti prsten koji treba smatrati pozitivnim rezultatom.	
Uporedite LYS, ARG i ORN sa DCB. Ovi bunarčići moraju biti prekriveni uljem da bi rezultati bili ispravni. Ljubičasta se smatra pozitivnom kada se upoređuje sa sivim bunarčićem sa DCB. Siva se smatra pozitivnom kada se upoređuje sa žutim bunarčićem sa DCB. Za nefermentore, pozitivan test mora biti znatno ljubičastiji od osnovne kontrole. Ako je osnovna kontrola ljubičasta, osnovni medijum je alkalizovan, a LYS, ARG i ORN treba zabeležiti kao negativne. Ovo obično rade vrsta Achromobacter i Ochrobactrum anthropi.			
LYS		Ljubičasta do siva	Žuta
ARG			
ORN		Ljubičasta	Bezbojna do siva
TDA	Dodajte 1 kap 10% gvožđe hlorida. Boja se odmah razvija.	Bilo koja nijansa smeđe	Žuta do narandžasta
ESC		Svetlo smeđa do crna	Bež do bezbojna
VP	Dodajte 1 kap 40% KOH i 1 kap 5% alfa naftola. Sačekajte najmanje 20 minuta da se reakcija razvije.	Crvena	Bezbojna
		Neki nefermentori mogu proizvesti bledo ružičastu boju nakon 18 sati inkubacije što treba smatrati negativnim rezultatom.	
ONPG		Žuta	Bezbojna
		Uporedite bilo koji bunarčić sa ONPG koji izgleda bistro sa bunarčićem sa cetrimidom. Ako ONPG pokazuje bilo koju žutu boju u poređenju sa bunarčićem sa cetrimidom, izdati kao pozitivan rezultat.	

Bunarčić	Reagens	Pozitivno	Negativno
CIT		Plava do plavo-zelena	Zelena do žuta
MAL		Svaka nijansa plave boje smatra se pozitivnim rezultatom	
TAR			
ACE			
CET		Rast	Bez rasta
OF/G		Žuta	Ako je OF podloga zelena: Zelena do plava
		Žuta do zelena	Ako je OF baza plava do plavo-zelena: Plava
		Uporedite OF/G bunarčić sa OF osnovnom kontrolom.	
NIT	Dodajte 1 kap 0,8% sulfinske kiseline, zatim 1 kap 0,5% N, N-dimetil-alfa-naftilamina. Sačekajte najmanje 5 minuta da se reakcija razvije.	Crvena	Bezbojna do svetlo ružičasta
P ₄		Rast (rezistentno)	Bez rasta (osetljivo)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Samo za prepoznavanje panela autoSCAN-4 i WalkAway sistema.		

2. Principi reakcija za identifikaciju

Fermentacija ugljenih hidrata (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): fermentacija određenog ugljenog hidrata dovodi do formiranja kiseline, a pad pH vrednosti se detektuje fenol crvenim indikatorom.

Urea (URE): enzim ureaza razdvaja ureu i formira amonijak. Rezultujuće povećanje pH vrednosti se detektuje fenol crvenim indikatorom.

Vodonik sulfid (H₂S): gas vodonik sulfid se stvara iz natrijum tiosulfata i reaguje sa jonima gvožđa u medijumu da bi proizveo crni talog.

Indol (IND): metabolizam triptofana dovodi do formiranja indola, koji se detektuje dodavanjem Kovačevog reagensa. Ako je indol prisutan, razvija se crvena boja.

Lizin, arginin, ornitin (LYS, ARG, ORN): dekarboksilacija ovih aminokiselina dovodi do stvaranja osnovnih amina koji se detektuju pomoću bromkrezol ljubičastog indikatora.

Triptofan deaminaza (TDA): bakterije sposobne za deaminaciju triptofana proizvode indolpiruvičnu kiselinu, koja reaguje sa amonijum-citratom gvožđa u medijumu nakon dodavanja feri hlorida da bi se dobila smeđa boja.

Hidroliza eskulina (ESC): hidroliza eskulina se detektuje feri amonijum citratom u medijumu, koji reaguje sa hidrolitičkim proizvodima i formira crni talog.

Voges-Proskauer (VP): acetoin se stvara iz natrijum piruvata i označen je formiranjem crvene boje nakon dodavanja 40% kalijum hidroksida i 5% alfa naftola.

Galaktozidaza (ONPG): β-galaktozidaza hidrolizuje orto-nitrofenil-β-D-galaktopiranozid, koji oslobađa orto-nitrofenol žute boje.

Citrat, malonat, acetamid, tartrat (CIT, MAL, ACE, TAR): upotreba ovih supstrata kao jedinog izvora ugljenika za metabolizam dovodi do porasta pH vrednosti koji se detektuje pomoću bromtimol plavog indikatora.

Oksidacija-fermentacija (OF/G): oksidacija glukoze dovodi do formiranja kiseline a pad pH vrednosti detektuje se bromtimol plavim indikatorom. OF/G se upoređuje sa OF/B (baza) da bi se utvrdilo da li je došlo do stvaranja kiseline.

Nitrat (NIT): sposobnost organizma da redukuje nitrat u nitrit se detektuje dodavanjem N,N-dimetil-alfa-naftilamina i sulfanilne kiseline, koji proizvode crvenu boju u prisustvu nitrata.

Cetrimid (CET): tolerancija na cetrimid se pokazuje rastom u Mueller-Hinton bujonu dopunjenom cetrimidom.

Penicilin, kanamicin, kolistin, cefalotin, nitrofurantoin, tobramicin (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): otpornost na specifične koncentracije ovih antimikrobnih agenasa je dokazana rastom.

3. Identifikacija organizma

Biotype Lookup Program u LabPro menadžeru informacija i na veb-sajtu kompanije Beckman Coulter koristi se za identifikaciju nepoznatih test organizama. Program navodi identifikaciju organizama i relativne verovatnoće, po redosledu najveće verovatnoće, do kumulativne ukupne vrednosti 99,9%.

Ako se pojavi broj biotipa čiji je rezultat „Very Rare Biotype“ (Veoma redak biotip), pogledajte LabPro softver (Utilities (Uslužni programi)>System (Sistem)>Biotype Lookup (Biotype Lookup)), Biotype Lookup Program na veb-sajtu kompanije Beckman Coulter ili se obratite predstavniku kompanije Beckman Coulter ili distributeru.

OGRANIČENJA POSTUPKA

1. *Haemophilus* i druge zahtevne gram-negativne bakterije neće rasti u Mueller-Hinton bujonu koji nije dopunjen faktorima za obogaćenje rasta.
2. Ovde opisane procedure su prikladne samo za fakultativne anaerobne i aerobne gram-negativne bacile.
3. Dodatni testovi mogu biti neophodni za određivanje konačne identifikacije kada se dobije identifikacija male verovatnoće (<85%) (pogledajte MicroScan Biotype Lookup Program ili dokument Microbiology Manual (Priručnik za mikrobiologiju)).
4. Interpretaciju rezultata testa treba da obavlja obučeno kliničko osoblje koje treba da koristi procenu, znanje i dodatne potvrde 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. Zvaničnici javnog zdravstva bi trebalo da budu obavešteni o svim izolatima koji se navodno identifikuju kao *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* ili *F. tularensis*. Potvrda izolata ovih bakterija može da podrazumeva specijalizovano testiranje koje je dostupno samo u referentnim ili javnim laboratorijama.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Plava, plavo-zelena, zelena	Plava, plavo-zelena	Plava, plavo-zelena, zelena	Plava, plavo-zelena, zelena
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Siva do žuta	Siva do žuto-siva	Žuta	Nije primenljivo
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Nije primenljivo

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	Nije primenljivo
To ₄ ²	-	-	-	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. *P. aeruginosa* ATCC 27853 može stvoriti bledoružičastu boju u VP nakon 18 sati inkubacije, što treba tumačiti kao negativan rezultat.

4. Slaba pozitivna reakcija se može dobiti sa *E. coli* ATCC 25922 ako se paneli inkubiraju duže od 18 sati.

5. Može biti potrebno 48 sati 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 toga, identifikacije organizama se mogu razlikovati od onih navedenih u dijagrama 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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. haliotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Identifikacija osušenih gram negativnih - pojednostavljena kontrola kvaliteta (QC) ID-a ¹					
Organizam za kontrolu kvaliteta (QC)	ATCC broj	Supstrat sa ključnim indikatorom	Očekivani rezultati	Rezultati van specifikacije	Labilni supstrat
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Da
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Da

1. Ključni indikatori za kontrolu kvaliteta su obezbeđeni za pojednostavljenu kontrolu kvaliteta (QC) prema CLSI dokumentu M50-A.⁴ 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.

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

Zahtevi za izvođenje MicroScan isušenog gram-negativnog identifikacionog panela uspostavljeni su u multicentričnoj studiji. Klinički izolati i sojevi testirani su na isušenom neg tip 2 panelu i konvencionalnim metodologijama sa epruvetama da bi se prikazao tip bakterijske populacije koja se očekuje u rutinskoj kliničkoj laboratoriji. Potpunu listu mikroorganizama koji se nalaze u bazi podataka potražite u odeljku Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli (Isušeni (konvencionalni) neg paneli: gram-negativni aerobni bacili) u dokumentu Microbiology Information Manual (Priručnik sa mikrobiološkim informacijama).

Procentualno podudaranje sa referentnom metodom

Br. testiranih	Broj ispravnih identifikacija	% ispravne identifikacije
609	593	97,4

REPRODUKTIVNOST

Reproduktivnost se utvrđuje testiranjem više replikata u različitim uslovima (npr. serije panela, dani, instrumenti, korisnici). To može da obuhvati QC sojeve, kliničke izolate ili i jedno i drugo. Celokupno podudaranje iznosilo je ≥95%.

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.

OBAVEŠTENJE ZA KORISNIKA

Bilo koji ozbiljan incident do kojeg dođe u vezi sa MicroScan panelima treba prijaviti kompaniji Beckman Coulter i nadležnom organu države članice u kojoj se korisnik i/ili pacijent nalazi.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA	DATUM	OPIS
AA	Maj 2022.	Prvobitno izdanje
AB	Decembar 2022.	Ažurirano: Reproducibilnost

Ključ za simbole

Sledeći simboli se mogu koristiti pri označavanju mikrobioloških proizvoda kompanije Beckman Coulter.

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, klauzula 5.4.2
	Upotrebiti do	Označava datum nakon kojeg medicinsko sredstvo ne treba koristiti.	ISO 15223-1, klauzula 5.1.4
	Kôd serije	Označava šifru serije proizvođača, tako da se mogu identifikovati serija ili lot.	ISO 15223-1, klauzula 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, klauzula 5.1.3
	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, klauzula 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, klauzula 5.3.7
	Pogledati Uputstvo za upotrebu	Označava potrebu da korisnik pogleda uputstvo za upotrebu.	ISO 15223-1, klauzula 5.4.3
	CE oznaka	Evropska regulatorna oznaka usklađenosti	Nije primenljivo
	Sadržaj	Nije primenljivo	Nije primenljivo
	Sadržaj (pakovanje)	Antimikrobno sredstvo (skraćena)	Nije primenljivo
	Sadržaj (pakovanje)	Supstrat za identifikaciju (skraćena)	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, klauzula 5.3.1
	Ova strana gore	Označava ispravan uspravan položaj	ISO 7000: 0623
	Informacije samo za SAD	Označava informacije koje su potrebne samo za proizvode namenjene za prodaju u SAD.	Nije primenljivo
	Koristi se isključivo prema prepisanom uputstvu	Agencija Sjedinjenih Država FDA priznaje kao alternativu oznake „Pažnja: Savezni zakon ograničava prodaju ovog medicinskog sredstva samo na prodaju od strane licenciranog lekara ili po njegovom nalogu“	21CFR 801.109(b)(1)

Ključ za simbole			
Simbol	Naziv simbola	Opis standarda	Standard
	Biološke opasnosti	Ukazuje da postoje potencijalne biološke opasnosti povezane sa medicinskim sredstvom. Napomena: Ovaj simbol ne treba mešati sa znakom „biološke opasnosti“ koji je namenjen da se koristi na radnom mestu.	ISO 15223-1, klauzula 5.4.1
DANGER	Opasnost	Nije primenljivo	Nije primenljivo
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 jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

MicroScan

Manual de procedimentos de Identificação de Gram-negativos 2, LabPro ≥V5.0

REF B1017-27

USO PREVISTO

O Painel de Identificação Negativo MicroScan Tipo 2 é um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* destinado à determinação qualitativa da identificação ao nível de espécie de bacilos Gram-negativos anaeróbios facultativos e aeróbios de crescimento rápido de colônias isoladas. Os métodos para incubação e determinação de resultados incluem a automação completa na instrumentação WalkAway ou a incubação off-line não automatizada, com leitura na instrumentação autoSCAN-4 ou leitura manual, com a opção de inserir os resultados no sistema de gerenciamento de dados LabPro.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

SUMÁRIO E PRINCÍPIO

Após os painéis serem inoculados e reidratados com uma suspensão padronizada de organismos, eles são incubados a 35°C por, no mínimo, 16 horas. São utilizados testes convencionais e cromogênicos modificados para a identificação de bacilos Gram-negativos fermentadores e não fermentadores. A identificação se baseia na detecção de alterações no pH, na utilização de substrato e no crescimento na presença de agentes antimicrobianos após 16–42 horas de incubação a 35°C.¹

Painel de Identificação Negativo Tipo 2			
Substratos	Abr.	Substratos	Abr.
Glicose	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sacarose	SUC	Citrato	CIT
Sorbitol	SOR	Malonato	MAL
Rafinose	RAF	o-Nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo	ONPG
Ramnose	RHA	Tartarato	TAR
Arabinose	ARA	Acetamida	ACE
Inositol	INO	Cetrimida	CET
Adonitol	ADO	OF glicose	OF/G
Melibiose	MEL	Base OF	OF/B
Ureia	URE	Base de descarboxilase	DCB
Sulfeto de hidrogênio	H ₂ S	Nitrato	NIT
Indol	IND	Penicilina G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lisina	LYS	Canamicina, 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginina	ARG	Colistina, 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornitina	ORN	Nitrofurantoína, 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Triptofano desaminase	TDA	Cefalotina, 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Esculina	ESC	Tobramicina, 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Antimicrobianos usados para identificação.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

Os resultados do teste de identificação são usados em conjunto com outros resultados laboratoriais e indicadores clínicos para refinar a terapia em pacientes sintomáticos.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Apenas para uso em diagnóstico *in vitro*.
2. Observe as técnicas assépticas e as precauções estabelecidas contra riscos microbiológicos em todos os procedimentos, com especial atenção ao fato de que os painéis inoculados contêm organismos potencialmente patogênicos.
3. Esse material contém agentes infecciosos e deve ser descartado conforme adequado para resíduos de risco biológico.
4. Os resultados desse teste devem ser sempre interpretados em conjunto com o histórico médico e a apresentação clínica do paciente e outras constatações.
5. Apenas para uso único. Todos os consumíveis e painéis MicroScan não devem ser reutilizados salvo indicação em contrário (por exemplo, bandejas de proteção).
6. Este produto contém material(is) de origem animal de meios microbiológicos desidratados. Siga as diretrizes gerais de segurança para proteção ao manusear este produto.

ARMAZENAMENTO

Os painéis de Gram-negativos desidratados precisam ser armazenados a 2–25°C.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso



A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

A exposição prolongada a condições de armazenamento que não as recomendadas pode resultar na hidrólise dos substratos de identificação. Não use após a data de validade. Entre em contato com o representante ou o revendedor da Beckman Coulter para obter assistência adicional.

COLETA DE ESPÉCIME E PREPARAÇÃO

Amostras adequadas devem ser coletadas, transportadas e colocadas em meio de isolamento primário de acordo com os procedimentos recomendados no *Manual of Clinical Microbiology (Manual de microbiologia clínica)*.²

MATERIAIS FORNECIDOS

Identificação Negativo Tipo 2 (B1017-27)

Manual de controle de qualidade e de procedimentos

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

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

Cloreto férrico a 10%, 30 mL (B1010-48A) ou 250 mL (B1015-48)

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

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

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

Padrão de turbidez McFarland 0,5

Pipetador de 100 µL

Papel de etiqueta de código de barras (B1018-129)

Bandejas de proteção (B1010-56B)

Equipamentos gerais de laboratório

Reagente de Kovac, 30 mL (B1010-41A) ou 250 mL (B1015-41)

Planilhas de painel manual (usadas para registrar os resultados lidos manualmente)

Visualizador de microdiluição

Óleo mineral, 60 mL (B1010-40)

Óleo mineral, 250 mL (B1010-40A)

Reagente de oxidase

Organismos de controle de qualidade (consulte a seção de CQ deste manual)

Formulários do relatório de controle de qualidade

Kit de conta-gotas de reagente (B1013-12A)

RENOK — Reidratante/inoculador (B1018-14) ou equivalente

Medidor de turbidez

Vortex

MATERIAIS DE USO ÚNICO

Solução salina esterilizada em autoclave a 0,85%, 3 mL

Pontas de pipeta estéreis descartáveis

Conjunto de inoculadores D (B1013-4)

Água de inóculo, 3 mL (B1015-2)

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

*Surfactantes PLURONIC®. Marca comercial registrada da BASF Corporation, Parsippany, NJ EUA.

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

Tiras de vedação (B1010-51)

Tampas para bandejas WalkAway (B1018-18)

PROCEDIMENTO

Preparação de painel

1. Retire os painéis a serem utilizados do local de armazenamento. Não utilize-os se a integridade da embalagem estiver comprometida (sem lacre, perfurada ou rasgada).
2. Corte a embalagem para abri-la e retire o painel. Se armazenado em refrigerador, retire o painel imediatamente da bolsa de alumínio.
3. **Os painéis não devem ser utilizados caso ocorra qualquer uma das seguintes condições:**
 - A. O dessecante não está presente ou está quebrado.
 - B. Os poços do painel estão desbotados (por exemplo, DCB, diversos agentes antimicrobianos).
4. Deixe os painéis se equilibrarem até a temperatura ambiente antes da reidratação. Os painéis podem ser empilhados com uma bandeja de cobertura limpa na parte superior. Todos os painéis abertos devem ser utilizados no mesmo dia ou descartados.

Preparação do inóculo

O CLSI recomenda a verificação periódica das densidades do seu inóculo por meio da execução de contagens de colônias. Consulte o documento M07 do CLSI, 11ª ed., para obter as recomendações sobre contagem de colônias. Os resultados esperados para *E. coli* ATCC 25922 devem ficar bem próximos de 5×10^5 UFC/mL para as concentrações finais de teste.³ O usuário deve prestar bastante atenção à preparação do inóculo, especialmente com métodos manuais que dependam de técnica, como o sistema Prompt, ou quando o inóculo é preparado sem o auxílio de um dispositivo fotométrico.

1. Técnica padrão de turbidez — Método de inoculação primária

Recomenda-se a técnica padrão de turbidez para inoculação direta de todos os bacilos Gram-negativos aeróbios.

- A. Utilizando um aplicador, uma alça ou um swab estéril, toque na superfície de 4–5 colônias grandes ou 5–10 colônias pequenas morfológicamente semelhantes e bem isoladas de uma placa de ágar não inibitória de 18–24 horas.
- B. Emulsione em 3 mL de água de inóculo (água deionizada em autoclave).
- C. Tampe firmemente e agite a suspensão em vórtex por 2–3 segundos.
- D. A turbidez final deve ser equivalente àquela de um padrão de turbidez McFarland 0,5. Uma turbidez equivalente pode ser obtida com o uso de um Medidor de turbidez MicroScan, na faixa de $0,08 \pm 0,02$.
- E. Pipete 0,1 mL (100 µL) da suspensão padronizada em 25 mL de água de inóculo com PLURONIC. Tampe bem. Inverta de 8–10 vezes para misturar.

2. Sistema Prompt

O Sistema Prompt pode ser usado para inocular bacilos Gram-negativos. Consulte o Prompt Inoculation procedural manual (Manual de procedimentos de inoculação do Prompt) para obter informações sobre o uso adequado do Sistema Prompt.

NOTA: use com atenção. É possível que ocorra a subinoculação com os organismos que não cumprem o requisito de tamanho. A subinoculação pode causar resultados de testes de identificação e suscetibilidade incorretos.

Teste de oxidase

Realize um teste de oxidase antes da inoculação dos painéis. Registre os resultados no espaço adequado na planilha ou conforme exigido pela instrumentação. Os resultados de oxidase corroboram a separação dos táxons e o relato precoce de não fermentadores (por exemplo, complexo *Acinetobacter baumannii*). Para os Sistemas WalkAway, recomenda-se inserir os resultados de oxidase antes da impressão dos códigos de barras. Alguns não fermentadores ainda podem ser retidos até 42 horas, dependendo do crescimento. O reagente de oxidase recomendado é o dicloridrato de tetrametil p-fenilenodiamina.

Reidratação/inoculação do painel

A reidratação e inoculação são realizadas utilizando o sistema RENOK com Inoculators-D (B1013-4). Consulte o RENOK Operator's Manual (Manual do operador do RENOK) para informar-se sobre o uso. Se utilizar um sistema alternativo, reidrate com $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ de água de inóculo com PLURONIC. Deve-se atingir uma concentração final no poço de $3\text{--}7 \times 10^5$ UFC/mL. Para garantir a viabilidade e a pureza do organismo testado, deve ser preparada uma placa de verificação de pureza estriando o inóculo em uma placa de ágar adequada e realizando a incubação sob as condições adequadas. Se dois ou mais tipos de colônia estiverem presentes na placa de verificação de pureza, isole mais uma vez as colônias e realize o teste novamente.

**3M, St. Paul, MN USA

Sobreposições bioquímicas

1. Use um frasco dosador para cobrir os poços GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN e DCB com 3 gotas de óleo mineral. Esses poços estão sublinhados no painel.
2. Os meios de cultura nos poços precisam ser totalmente cobertos com óleo mineral, porém o óleo não deve transbordar para fora dos poços.

NOTA: os Sistemas WalkAway (e os Sistemas WalkAway atualizados com o recurso de cobertura automática de óleo) adicionam óleo automaticamente aos poços apropriados.

Tira de vedação

Apenas para organismos Gram-negativos oxidase positivos, coloque uma fita de vedação sobre os poços CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B e DCB. O orifício localizador com um quarto de polegada na fita deve estar alinhado sobre o poço DCB. Nos Sistemas WalkAway, utiliza-se a tampa em vez da fita de vedação.

Incubação

1. Os painéis podem ser incubados em um sistema WalkAway ou sem o uso dele seguindo as seguintes etapas:
 - A. Para garantir uma distribuição térmica uniforme durante a incubação, empilhe os painéis em grupos de 3–5.
 - B. Coloque uma bandeja de proteção limpa em cima de cada grupo de painéis para evitar a evaporação. As bandejas de cobertura podem ser reutilizadas. Não descontamine as bandejas de proteção com álcool. Elas podem ser higienizadas com água e sabão. Enxágue bem e deixe secar ao ar livre.
 - C. Realize a incubação dos painéis por no mínimo 16 horas a 35°C em uma incubadora sem CO₂.

Leitura dos painéis

Os painéis podem ser lidos manualmente e os resultados registrados em uma Planilha do painel manual ou na instrumentação MicroScan (Sistemas autoSCAN-4 e WalkAway). Consulte o Guia do operador para obter informações sobre a leitura de painéis com a instrumentação MicroScan.

1. Após 16–20 horas de incubação, retire os painéis da incubadora.
2. Limpe o fundo do painel com um tecido sem fiapos para remover qualquer condensação ou resíduos que possam estar presentes.
3. Leia os painéis apenas se o poço de controle estiver transparente e o poço de crescimento estiver turvo. Não realize a leitura do painel se o poço de controle estiver turvo ou se não houver crescimento no poço de crescimento. A turbidez pode assumir a forma de uma névoa 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 ou a ausência dele são definidos como uma ligeira brancura no poço ou uma transparência do caldo.
4. Se os resultados forem lidos manualmente, registre-os na planilha adequada.
5. **Leitura dos substratos de identificação**

- A. Realize a leitura de todos os substratos de identificação contra um fundo branco, exceto o CET e os agentes antimicrobianos usados para identificação (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) que devem ser lidos contra um fundo preto (com iluminação indireta).
- B. Os seguintes substratos são sempre lidos às 16–24 horas: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Se qualquer uma das opções a seguir for verdadeira:
 - a. GLU ou SUC ou SOR positivo, ou
 - b. ARG positivo e OF/G positivo, ou
 - c. ARG positivo e CET positivo, ou
 - d. LYS positivo, ou
 - e. ORN positivo, ou
 - f. OXI negativo e OF/G positivo e Fd₆₄ positivo e MAL positivo.

Adicione reagentes e faça a leitura dos substratos restantes em 16–24 horas de incubação. Se nenhuma das condições acima for verdadeira, reincube os painéis por mais 24 horas antes de adicionar reagentes e fazer a leitura dos substratos restantes.

- D. Se, após a nova incubação, o organismo ainda se apresentar não reativo, verifique para garantir que o organismo tenha crescido em carboidratos de vermelho de fenol (especialmente se há crescimento insatisfatório ou nenhum crescimento no controle de crescimento de Mueller-Hinton). Se não houver nenhum crescimento nos carboidratos de vermelho de fenol, deve-se suspeitar de um organismo fastidioso, como uma espécie *Vibrio* halofílica. Uma coloração de Gram deve ser repetida para confirmar que se trata de um Gram-negativo.

- a. No caso de haver uma suspeita de uma doença clinicamente significativa por conta da espécie *Vibrio* halofílica, realize o teste novamente emulsificando diversas colônias em 3,0 mL de solução salina esterilizada a 0,85% e realize também testes adicionais, incluindo crescimento em sal, conforme recomendado pelo software. A turbidez final deve ser equivalente a um padrão de turbidez McFarland 0,5. Uma turbidez equivalente pode ser atingida com o uso de um medidor de turbidez MicroScan, no intervalo de $0,08 \pm 0,02$. Reidrate o painel com 25 mL de água de inóculo não inoculada com PLURONIC utilizando um RENOK. Utilizando uma pipeta de transferência esterilizada, adicione uma gota (45–50 μ L) da suspensão salina a cada um dos poços de identificação, incluindo os poços de crescimento, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ e Fd₆₄. Todas as outras etapas de processamento de painel devem ser seguidas.
- E. Antes de realizar a leitura, adicione os reagentes da seguinte forma:
- a. Adicione 1 gota de hidróxido de potássio (KOH) a 40% e 1 gota de alfa-naftol a 5% ao poço VP. Aguarde pelo menos 20 minutos para que a reação do VP se desenvolva.
- b. Adicione 1 gota de cloreto férrico a 10% ao poço TDA. A cor se desenvolverá imediatamente.
- c. Adicione 3 gotas de reagente de Kovac MicroScan ao poço IND. A cor se desenvolverá imediatamente.
- NOTA:** o reagente de Kovac MicroScan é uma fórmula especial desenvolvida para o uso com a instrumentação MicroScan. É necessária apenas uma gota se os painéis forem lidos manualmente.
- d. Adicione 1 gota de ácido sulfanílico a 0,8% e, em seguida, 1 gota de N, N-Dimetil-alfa-naftilamina a 0,5% ao poço NIT. Aguarde pelo menos 5 minutos antes de realizar a leitura para que a reação de NIT se desenvolva.
- F. Consulte a seção RESULTADOS para obter auxílio sobre a interpretação bioquímica.

RESULTADOS

1. Interpretações bioquímicas

Poço	Reagente	Positivo	Negativo
GLU		Apenas amarelo escuro	Laranja a vermelho
		Alguns não fermentadores podem produzir uma cor dourada, que deverá ser considerada negativa.	
SUC		Amarelo para amarelo/laranja	Laranja a vermelho
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Magenta a rosa	Amarelo, laranja ou rosa claro
H ₂ S		Precipitado preto ou botão preto	Sem coloração preta
IND	Adicione 3 gotas (ou uma gota se o painel for lido visualmente) de reagente de Kovac MicroScan. A cor se desenvolve imediatamente.	Rosa a vermelho	Amarelo claro a laranja
		Providencia sp. poderá produzir um anel rosa claro, devendo ser considerada positiva.	
Compare LYS, ARG e ORN com DCB. Esses poços precisam ser cobertos com óleo para que os resultados sejam válidos. Roxo é considerado positivo quando comparado com um poço DCB cinza. Cinza é considerado positivo quando comparado com um poço DCB amarelo. Para não fermentadores, um teste positivo precisa ser significativamente mais roxo do que o controle basal. Se o controle basal for roxo, o meio basal foi alcalinizado e o LYS, ARG e ORN devem todos ser registrados como negativos. As espécies de Achromobacter e Ochrobactrum anthropi tendem a fazer isso.			
LYS		Roxo a cinza	Fermentadores:
ARG			Amarelo
			Não fermentadores:
ORN		Roxo	Incolor a cinza
TDA	Adicione 1 gota de cloreto férrico a 10%. A cor se desenvolve imediatamente.	Qualquer tonalidade de marrom	Amarelo a laranja
ESC		Marrom claro a preto	Bege a incolor

Poço	Reagente	Positivo	Negativo
VP	Adicione 1 gota de KOH a 40% e 1 gota de alfa-naftol a 5%. Aguarde pelo menos 20 minutos para que a reação se desenvolva.	Vermelho	Incolor
		Alguns não fermentadores podem produzir uma coloração rosa claro após 18 horas de incubação, devendo ser considerados negativos.	
ONPG		Amarelo	Incolor
		Compare qualquer poço ONPG que aparente está transparente com o poço de cetrimida. Se o ONPG apresentar qualquer amarelo em comparação com o poço de cetrimida, registre-o como positivo.	
CIT MAL		Azul a azul esverdeado Qualquer tonalidade de azul é considerada positiva	Verde a amarelo
TAR ACE			
CET		Crescimento	Sem crescimento
OF/G		Amarelo	Se a base OF for verde: Verde para azul
		Amarelo a verde	Se a base OF for azul a azul esverdeado: Azul
		Compare o poço OF/G com o controle base OF.	
NIT	Adicione 1 gota de ácido sulfanílico a 0,8% e, em seguida, 1 gota de N, N-Dimetil-alfa-naftilamina a 0,5%. Aguarde pelo menos 5 minutos para que a reação se desenvolva.	Vermelho	Incolor a rosa claro
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Crescimento (resistente)	Sem crescimento (suscetível)
LOC	Apenas para reconhecimento de painéis do sistema autoSCAN-4 e WalkAway.		

2. Princípios das reações de identificação

Fermentação de carboidratos (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): a fermentação de um carboidrato específico resulta na formação de ácido e o indicador vermelho de fenol detecta uma queda no pH.

Ureia (URE): a enzima urease quebra a ureia, formando amônia. O aumento resultante no pH é detectado pelo indicador vermelho de fenol.

Sulfeto de hidrogênio (H₂S): o gás sulfeto de hidrogênio é produzido a partir de tiosulfato de sódio e reage com íons férricos no meio para produzir um precipitado preto.

Indol (IND): o metabolismo do triptofano resulta na formação de indol, que é detectado pela adição do reagente de Kovac. Se o indol estiver presente, ocorre o desenvolvimento de uma cor vermelha.

Lisina, arginina, ornitina (LYS, ARG, ORN): a descarboxilação desses aminoácidos resulta na formação de aminas básicas que são detectadas pelo indicador púrpura de bromocresol.

Triptofano desaminase (TDA): as bactérias capazes de desaminar o triptofano produzem ácido indolpirúvico, que reage com citrato férrico de amônio no meio após a adição de cloreto férrico para produzir uma cor marrom.

Hidrólise da esculina (ESC): a hidrólise da esculina é detectada pelo citrato férrico de amônio no meio, que reage com os produtos hidrolíticos para formar um precipitado preto.

Voges-Proskauer (VP): a acetoina é produzida a partir de piruvato de sódio e é indicada pela formação de uma cor vermelha após a adição de hidróxido de potássio a 40% e alfa-naftol a 5%.

Galactosidase (ONPG): a β-galactosidase hidrolisa o orto-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo, que libera o orto-nitrofenol de coloração amarelada.

Citrato, malonato, acetamida, tartarato (CIT, MAL, ACE, TAR): a utilização desses substratos como única fonte de carbono para o metabolismo resulta em um aumento no pH que é detectado pelo indicador azul de bromotimol.

Oxidação-Fermentação (OF/G): a oxidação da glicose resulta na formação de ácido e o indicador azul de bromotimol detecta uma queda no pH. O OF/G é comparado com o OF/B (Base) para determinar se houve produção de algum ácido.

Nitrato (NIT): a capacidade de um organismo reduzir nitrato para nitrito é detectada pela adição de N,N-dimetil-alfa-naftilamina e ácido sulfanílico, que produzem uma cor vermelha na presença de nitrito.

Cetrimida (CET): a tolerância à cetrimida é demonstrada pelo crescimento no caldo Mueller-Hinton suplementado com cetrimida.

Penicilina, canamicina, colistina, cefalotina, nitrofurantoína, tobramicina (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): a resistência a concentrações específicas desses agentes antimicrobianos é demonstrada pelo crescimento.

3. Identificação de organismos

O Biotype Lookup Program no Gerenciador de informações LabPro e no site da Beckman Coulter é utilizado para a identificação de organismos de teste desconhecidos. O programa lista a identificação dos organismos e as probabilidades relativas, em ordem decrescente de probabilidade, até um total cumulativo de 99,9%.

Caso ocorra um número de biótipo que resulte em um “Very Rare Biotype” (Biótipo muito raro), consulte o software LabPro (Utilities [Utilitários]>System [Sistema]>Biotype Lookup [Pesquisa de biótipos]), o Biotype Lookup Program no site da Beckman Coulter ou o seu revendedor ou representante da Beckman Coulter.

LIMITAÇÃO DO PROCEDIMENTO

1. A *Haemophilus* e outras bactérias Gram-negativas fastidiosas não crescerão em caldo Mueller-Hinton que não tenha sido complementado com fatores de potencialização de crescimento.
2. Os procedimentos descritos neste documento são adequados apenas para bacilos Gram-negativos aeróbios e anaeróbios facultativos.
3. Poderão ser necessários testes adicionais para determinar a identificação final quando uma identificação de probabilidade baixa (<85%) for obtida (consulte o MicroScan Biotype Lookup Program ou o Microbiology Manual (Manual de microbiologia)).
4. A interpretação dos resultados dos testes exige funcionários clínicos treinados, que devem fazer uso de discernimento, conhecimento e testes confirmatórios adicionais, sempre que necessário, antes de aceitar a identificação de um organismo.
5. Os números de biótipos não devem ser utilizados para identificação do fenótipo de estirpes isoladas de diversas espécimes do mesmo paciente.
6. Os funcionários da área de saúde pública devem ser notificados sobre todos os isolados presumivelmente identificados como *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* ou *F. tularensis*. A confirmação dos isolados dessas bactérias pode exigir testes especializados disponíveis apenas em laboratórios de referência ou de saúde pública.

CONTROLE DE QUALIDADE

A aceitabilidade dos meios de identificação deve ser verificada testando os organismos que apresentam reações conhecidas. Os resultados dos organismos de controle recomendados pela American Type Culture Collection (ATCC) estão listados na tabela a seguir.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Azul, azul esverdeado, verde	Azul, azul esverdeado	Azul, azul esverdeado, verde	Azul, azul esverdeado, verde
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Cinza a amarelo	Cinza a amarelo acinzentado	Amarelo	ND
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	ND
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	ND
To ₄ ²	-	-	-	ND

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Consulte a Tabela de testes adicionais para obter outras reações positivas ou negativas, conforme necessário para cada composto bioquímico.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 pode produzir uma coloração rosa claro no VP após 18 horas de incubação, o que deve ser interpretado como negativo.

4. É possível que se obtenha uma reação positiva fraca com *E. coli* ATCC 25922 se os painéis forem incubados por mais do que 18 horas.

5. Pode requerer incubação de 48 horas.

N/A = não aplicável

NOTA: os organismos de controle de qualidade são selecionados para apresentar reações positivas/negativas para todos os substratos de identificação. Como resultado, as identificações de organismos podem diferir daquilo que está apresentado na tabela de CQ. A aceitabilidade do desempenho do produto deve ser determinada pela comparação dos resultados dos testes, não pela identificação.

Tabela de testes adicionais

Organismo	Substrato	Resultado esperado
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Organismo	Substrato	Resultado esperado
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Identificação de organismos Gram-negativos desidratados — CQ de identificação simplificado ¹					
Organismo de CQ	Número ATCC	Principal substrato indicador	Resultado esperado	Resultado fora da especificação	Substrato lábil
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Sim
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Sim

1. Os indicadores principais de controle de qualidade são fornecidos para CQ simplificado com base no documento M50-A do CLSI.⁴ Antes de implementar o programa de CQ simplificado, consulte o documento M50-A para obter mais detalhes e consulte as agências regulatórias e os grupos de inspeção pertinentes para confirmar a aceitação.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Alegações de desempenho referentes ao painel de identificação de Gram-negativos desidratados MicroScan foram estabelecidas em um estudo multicêntrico. Isolados clínicos e cepas armazenadas foram testados no painel desidratado neg. ID tipo 2 e em tubo convencional para representar o tipo de população bacteriana esperada em um laboratório clínico de rotina. Consulte a seção Dried (Conventional) Neg Panels: Gram-Negative Aerobic Bacilli (Painéis negativos secos (convencionais): bacilos aeróbios Gram-negativos) do Microbiology Information Manual (Manual de informações microbiológicas) para uma lista completa de organismos incluídos no banco de dados.

Percentual de concordância com o método de referência

N.º de testados	N.º de identificações corretas	% de identificações corretas
609	593	97,4

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade é estabelecida testando-se várias replicatas em condições diferentes (por exemplo, lotes de painéis, dias, instrumentos, usuários). Isso pode incluir cepas de CQ, isolados clínicos ou ambos. A concordância global foi ≥95%.

DECLARAÇÃO DE GARANTIA

O sistema está coberto pelas e sujeito às disposições da garantia incluída no seu acordo contratual para o sistema ou seus reagentes. O cliente é responsável pelos procedimentos de manutenção preventiva de rotina. Os reparos resultantes da não execução desses procedimentos de manutenção nos intervalos de tempo indicados são efetuados a critério da Beckman Coulter e às custas do cliente.

AVISO AO USUÁRIO

Todo incidente grave que ocorrer relacionado aos painéis MicroScan deve ser reportado à Beckman Coulter e à autoridade pertinente do estado membro no qual o usuário e/ou o paciente está localizado.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO
AA	Maio de 2022	Versão inicial
AB	Dezembro de 2022	Atualizados: Reprodutibilidade

Legenda dos símbolos

Os símbolos a seguir poderão ser usados nos rótulos dos produtos de Microbiologia da Beckman Coulter.

Legenda dos símbolos			
Símbolo	Título do símbolo	Descrição do padrão	Padrão
Ⓢ	Não reutilize	Indica um dispositivo médico de uso único ou destinado para uso em um único paciente durante um único procedimento.	ISO 15223-1, cláusula 5.4.2
🕒	Data de validade	Indica a data após a qual o dispositivo médico não deve ser usado.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.4
LOT	Código de lote	Indica o código de lote do fabricante pelo qual o lote pode ser identificado.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.5
REF	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

Legenda dos símbolos			
Símbolo	Título do símbolo	Descrição do padrão	Padrão
	Fabricante	Indica o fabricante do dispositivo médico, conforme definido nas Diretivas da UE 90/385/CEE, 93/42/CEE e 98/79/CE.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.1
	Data de fabricação	Indica a data em que o dispositivo médico foi fabricado.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.3
	Representante autorizado na Comunidade Europeia	Indica o representante autorizado na Comunidade Europeia.	ISO 15223-1, cláusula 5.1.2
	Contém o suficiente para <n> testes	Indica o número total de testes de IVD que podem ser realizados com o IVD. (Normalmente incluído nos kits de reagentes).	ISO 15223-1, cláusula 5.5.5
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Indica um dispositivo médico destinado a ser usado como um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> .	ISO 15223-1, cláusula 5.5.1
	Limitação de temperatura	Indica os limites de temperatura aos quais o dispositivo médico pode ser exposto com segurança.	ISO 15223-1, cláusula 5.3.7
	Consulte as Instruções de uso	Indica a necessidade de o usuário consultar as instruções de uso.	ISO 15223-1, cláusula 5.4.3
	Marca CE	Marca regulatória de conformidade europeia	n/a
	Conteúdo	n/a	n/a
	Conteúdo (embalagem)	Agente antimicrobiano (abreviação)	n/a
	Conteúdo (embalagem)	Substrato de identificação (abreviação)	n/a
	Folha de dados de segurança	Indica uma folha de dados de segurança.	n/a
	Fabricado nos EUA	n/a	n/a
	Apenas para exportação	n/a	n/a
	Volume de reconstituição	n/a	n/a
	Frágil, manuseie com cuidado	Indica um dispositivo médico que pode ser quebrado ou danificado se não for manuseado com cuidado.	ISO 15223-1, cláusula 5.3.1
	Este lado para cima	Indica a posição vertical correta	ISO 7000: 0623
	Informações somente para os EUA	Indica informações que são necessárias somente para produtos que se destinam a serem vendidos nos EUA.	n/a
	Uso apenas mediante prescrição	Reconhecida pela FDA dos EUA como uma alternativa a "Atenção: as leis federais (EUA) restringem a venda deste dispositivo a profissionais da área médica licenciados ou mediante sua solicitação"	21CFR 801.109(b)(1)
	Riscos biológicos	Indica que há possíveis riscos biológicos associados ao dispositivo médico. Nota: Este símbolo não deve ser confundido com o emblema de "perigo biológico" destinado a ser usado no local de trabalho.	ISO 15223-1, cláusula 5.4.1
	Perigo	n/a	n/a
ISO 15223-1: Medical Devices — Symbols to be Used with Medical Device Labels, Labeling and Information to be Supplied. Part 1: General Requirements (ISO 15223-1: Dispositivos médicos — Símbolos para serem usados com etiquetas de dispositivos médicos, etiquetagem e informações a serem fornecidas. Parte 1: Requisitos gerais).			

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

MicroScan

Procedurehandleiding gramnegatief ID 2, LabPro ≥V5.0

REF B1017-27

BEOOGD GEBRUIK

Het MicroScan type 2 negatieve ID-panel is een *in vitro* diagnostisch medisch hulpmiddel dat bedoeld is voor de kwalitatieve bepaling van het soort snelgroeiende aerobe en facultatief anaerobe gramnegatieve bacillen van geïsoleerde kolonies. De methoden voor incubatie en het bepalen van resultaten zijn onder andere volledige automatisering op WalkAway-hulpmiddelen, of niet-geautomatiseerde offline incubatie met aflezen op autoSCAN-4-hulpmiddelen of handmatig aflezen met de mogelijkheid om resultaten in te voeren in het LabPro-gegevensbeheersysteem.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

OVERZICHT EN PRINCIPE

De panels worden eerst geïnoculeerd en gerehydrateerd met een gestandaardiseerde suspensie van het organisme. Vervolgens worden deze minstens 16 uur bij 35 °C geïncubeerd. Er zijn aangepaste conventionele en chromogene tests gebruikt om de fermentatieve en niet-fermentatieve gramnegatieve bacillen te identificeren. De identificatie is gebaseerd op detectie van veranderende pH-waarden, het gebruik van substraten en groei in aanwezigheid van antimicrobiële stoffen na 16 tot 42 uur incubatie bij 35 °C.¹

Negatief ID type 2-panel			
Substraten	Afk.	Substraten	Afk.
Glucose	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sucrose	SUC	Citraat	CIT
Sorbitol	SOR	Malonaat	MAL
Raffinose	RAF	o-nitrofenyl-β-D-galactopyranoside	ONPG
Rhamnose	RHA	Tartraat	TAR
Arabinose	ARA	Aceetamide	ACE
Inositol	INO	Cetrimide	CET
Adonitol	ADO	OF-glucose	OF/G
Melibiose	MEL	OF-base	OF/B
Ureum	URE	Decarboxylase-base	DCB
Waterstofsulfide	H ₂ S	Nitraat	NIT
Indool	IND	Penicilline-G 4 µg/mL ¹	P ₄
Lysine	LYS	Kanamycine 4 µg/mL ¹	K ₄
Arginine	ARG	Colistine 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Ornithine	ORN	Nitrofurantoïne 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Tryptofaandeaminase	TDA	Cefalotine 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Esculine	ESC	Tobramycine 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Antimicrobiële stoffen gebruikt voor het identificeren.

KLINISCHE RELEVANTIE

Testresultaten van de identificatie worden gebruikt in combinatie met andere laboratoriumresultaten en klinische indicatoren voor een meer verfijnde therapie voor symptomatische patiënten.

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. Uitsluitend voor eenmalig gebruik. MicroScan-panels en verbruiksartikelen mogen niet worden hergebruikt tenzij anders vermeld (bijv. op afdektrays).
6. Dit product bevat materiaal (materialen) van dierlijke oorsprong van gedehydrateerde microbiologische media. Neem de algemene veiligheidsrichtlijnen voor bescherming in acht tijdens de hantering van dit product.

OPSLAG

Gedroogde gramnegatieve panels moeten worden opgeslagen bij 2-25 °C.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk



Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

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 geplaatst op primaire isolatiemedia volgens de procedures die worden aangeraden in de *Manual of Clinical Microbiology* (Handleiding klinische microbiologie).²

VERSTREKTE MATERIALEN

Negatief ID type 2 (B1017-27)

Procedure- en kwaliteitscontrolehandleiding

MATERIALEN VEREIST, MAAR NIET VERSTREKT

5% alfanafthol, 30 mL (B1010-42A)

10% ijzerchloride, 30 mL (B1010-48A) of 250 mL (B1015-48)

0,5% N,N-dimethylalfanafthylamine, 30 mL (B1010-45A) of 250 mL (B1015-45)

40% kaliumhydroxide, 30 mL (B1010-43A) of 250 mL (B1015-43)

0,8% zwavelzuur, 30 mL (B1010-44A) of 250 mL (B1015-44)

Troebelheidstandaard van 0,5 McFarland

100 µL pipet

Barcodelabelpapier (B1018-129)

Afdektrays (B1010-56B)

Algemene laboratoriumapparatuur

Kovac's reagens, 30 mL (B1010-41A) of 250 mL (B1015-41)

Handmatige panelwerkbladen (voor registratie van handmatig afgelezen resultaten)

Microdilutieweviewer

Minerale olie, 60 mL (B1010-40)

Minerale olie, 250 mL (B1010-40A)

Oxidasereagens

Kwaliteitscontroleorganismen (raadpleeg gedeelte Kwaliteitscontrole van deze handleiding)

Rapportformulieren voor kwaliteitscontrole

Reagensdruppelkit (B1013-12A)

RENOK-rehydrator/inoculator (B1018-14) of een vergelijkbaar hulpmiddel

Troebelheidsmeter

Vortexmixer

MATERIALEN VOOR EENMALIG GEBRUIK

0,85% geautoclaveerde zoutoplossing, 3 mL

Wegwerpbare steriele pipetpunten

Inoculator-D-set (B1013-4)

Inoculatiewater, 3 mL (B1015-2)

Inoculatiewater met PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

*PLURONIC® oppervlakteactieve stoffen, een geregistreerd handelsmerk van BASF Corporation, Parsippany, NJ, VS.

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

Afdichtstrips (B1010-51)

WalkAway-traydeksels (B1018-18)

PROCEDURE

Panelvoorbereiding

1. Haal de benodigde panels uit de opslag. Gebruik de panels niet als de integriteit van de verpakking is aangetast (geperforeerd, gescheurd of niet afgedicht).
2. Snijd de zak open en haal de panel eruit. Haal de panel onmiddellijk uit de folieverpakking als deze in de koelkast is bewaard.
3. **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 panelwells zijn verkleurd (bijv. DCB, verschillende antimicrobiële stoffen).
4. Laat de panels voorafgaand aan rehydratie acclimatiseren tot kamertemperatuur. Panelen mogen worden gestapeld als er een schone afdektray bovenop wordt gelegd. Alle geopende panels moeten op dezelfde dag worden gebruikt en anders worden weggegooid.

Voorbereiding van het inoculum

Het CLSI raadt aan de dichtheidswaarden van het inoculum regelmatig te controleren door bepaling van het kiemgetal. Raadpleeg het CLSI-document M07, 11e ed. voor aanbevelingen met betrekking tot kiemgetalbepaling. De verwachte resultaten voor *E. coli* ATCC 25922 liggen nabij 5×10^5 KVE/mL voor de uiteindelijke testconcentraties.³ De gebruiker moet uiterst zorgvuldig te werk gaan bij het bereiden van het inoculum. Dit geldt met name voor handmatige methoden die techniekafhankelijk zijn, zoals het Prompt-systeem, of bij het bereiden van een inoculum zonder fotometrieapparaat.

1. Standaard troebelheidstechniek - *primaire inoculatiemethode*

De troebelheidstandaardtechniek wordt aanbevolen voor directe inoculatie van alle aerobe gramnegatieve bacillen.

- 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).
- C. Draai de dop stevig vast en plaats de suspensie gedurende 2-3 seconden in de vortexmixer.
- D. 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 $0,08 \pm 0,02$.
- E. Pipetteer 0,1 mL (100 µL) 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 mag worden gebruikt om gramnegatieve bacillen te inoculeren. 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 gevoeligheid en identificatie.

Oxidasetest

Voer een oxidasetest uit voordat de panels worden geïnoculeerd. Noteer de resultaten op de juiste plaats op het werkblad of zoals vereist door de instrumentatie. Met behulp van de oxidaseresultaten kunnen taxa van elkaar worden onderscheiden en kunnen niet-fermenteerders vroegtijdig worden opgemerkt (zoals *Acinetobacter baumannii* complex). Bij gebruik van WalkAway-systemen wordt aangeraden de oxidaseresultaten in te voeren voordat de barcodes worden afgedrukt. Bepaalde niet-fermenteerders kunnen na 42 uur nog steeds aanwezig zijn, afhankelijk van de groei. Het aanbevolen oxidasereagens is tetramethyl-p-fenyleendiaminedihydrochloride.

Panelrehydratie/-inoculatie

Rehydratie en inoculatie worden uitgevoerd met behulp van het RENOK-systeem met Inoculators-D (B1013-4). Raadpleeg de RENOK Operator's Manual (RENOK-bedieningshandleiding) voor het gebruik. Rehydrateer met 115 ± 10 µL inoculatiewater met PLURONIC als u een ander systeem gebruikt. Uiteindelijk moet een wellconcentratie van $3-7 \times 10^5$ KVE/mL worden bereikt. Bereid een zuiverheidsplaat om de levensvatbaarheid en de zuiverheid van het organisme te testen door het inoculum

**3M, St. Paul, MN, VS

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 kolonietypen aanwezig zijn op de zuiverheidsplaat.

Biochemische overlays

1. Gebruik een druppelflesje om de GLU-, URE-, H₂S-, LYS-, ARG-, ORN- en DCB-wells te bedekken met 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-systemen (en WalkAway-systemen met een upgrade voor de automatische olieoverlayfunctie) voegen automatisch olie toe aan de juiste wells.

Afdichtstrip

Plaats alleen in het geval van positieve gramnegatieve organismen een afdichtstrip over de CIT-, MAL-, ONPG-, TAR-, ACE-, CET-, OF/G-, OF/B- en DCB-wells. De opening van ongeveer 1/4" in de tape moet goed over de DCB-well worden uitgelijnd. Bij WalkAway-systemen worden deksels gebruikt in plaats van afdichtstrips.

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 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 minimaal 16 uur bij 35 °C in een incubator zonder CO₂.

De panels aflezen

Panels kunnen handmatig worden uitgelezen en de resultaten kunnen worden vastgelegd op een handmatig panelwerkblad of op MicroScan-instrumenten (autoSCAN-4- en WalkAway-systemen). Raadpleeg de Bedieningshandleiding voor het uitlezen 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 groeiwell troebel is. Lees de panels niet af als de controlewell troebel is of als er zich geen groei in de groeiwell bevindt. 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 of geen groei wordt aangeduid door een lichte witheid in de well of een helder vloeibaar medium.
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 in het geval van CET en antimicrobiële stoffen die worden gebruikt voor identificatie (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄). Deze stoffen moeten worden afgelezen op een zwarte achtergrond (met indirecte verlichting).
 - B. De volgende stoffen moeten altijd worden afgelezen na 16-24 uur: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
 - C. Als een van het volgende het geval is:
 - a. GLU-, SUC- of SOR-positief, of
 - b. ARG-positief en OF/G-positief, of
 - c. ARG-positief en CET-positief, of
 - d. LYS-positief, of
 - e. ORN-positief, of
 - f. OXI-negatief en OF/G-positief en Fd₆₄-positief en MAL-positief.

Voeg dan reagentia toe en lees de resterende stoffen af na 16-24 uur incubatie. Incubeer de panels opnieuw gedurende 24 uur voordat u reagentia toevoegt en de resterende stoffen afleest als geen van de bovenstaande situaties zich voordoet.

- D. Controleer of het organisme is gegroeid in de fenolroodkoolhydraten als het organisme na de herincubatie nog steeds niet reageert (met name als er zich onvoldoende of geen groei bevindt in de Mueller-Hinton-groei-controlewell). Als er zich geen groei in de fenolroodkoolhydraten bevindt, is er mogelijk sprake van een moeilijk groeiend organisme, zoals een halofiele *Vibrio*-soort. Gramkleuring moet dan opnieuw worden uitgevoerd om er zeker van te zijn dat het gramnegatief is.

- a. Voer een nieuwe test uit als er een vermoeden is van een klinisch significante ziekte die wordt veroorzaakt door een halofiel *Vibrio*-soort. Emulgeer in dat geval verschillende kolonies in 3,0 mL steriele zoutoplossing van 0,85% en voer andere tests uit die worden aangeraden door de software, zoals een groeitest in zout. 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 $0,08 \pm 0,02$. Rehydrateer de panel met 25 mL niet-geïnoculeerd inoculatiewater met PLURONIC met behulp van een RENOK-systeem. Voeg met behulp van een steriele transferpipet één druppel (45-50 μ L) zoutoplossing toe aan iedere identificatiewell, inclusief de groeiwells (Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ en Fd₆₄). Volg daarnaast ook alle andere panelverwerkingsstappen.
- E. Voeg de reagentia voorafgaand aan het aflezen als volgt toe:
- a. 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.
- b. Voeg 1 druppel 10% ijzerchloride toe aan de TDA-well. De kleur verandert meteen.
- c. Voeg 3 druppels MicroScan Kovac's reagens toe aan de IND-well. De kleur verandert meteen.
- OPMERKING:** het MicroScan Kovac's reagens is een speciale formule die is ontworpen voor gebruik met MicroScan-instrumenten. Er hoeft maar één druppel te worden gebruikt als de panels handmatig worden afgelezen.
- d. Voeg eerst 1 druppel 0,8% zwavelzuur en vervolgens 1 druppel 0,5% N,N-dimethylalfanafthylamine toe aan de NIT-well. Wacht voorafgaand aan het aflezen minimaal 5 minuten om de NIT te laten reageren.
- F. Raadpleeg het gedeelte RESULTATEN voor hulp bij de biochemische interpretatie.

RESULTATEN

1. Biochemische interpretaties

Well	Reagens	Positief	Negatief
GLU		Alleen donkergeel	Oranje tot rood
		Bepaalde niet-fermenteerders kunnen een gouden kleur produceren, wat als een negatief resultaat moet worden beschouwd.	
SUC		Geel tot geel/oranje	Oranje tot rood
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Magenta tot roze	Geel, oranje of lichtroze
H ₂ S		Zwart precipitaat of zwarte stip	Geen zwarte kleuren
IND	Voeg 3 druppels (of één druppel als de panels handmatig worden afgelezen) MicroScan Kovac's reagens toe. De kleur verandert meteen.	Roze tot rood	Lichtgeel tot oranje
		<i>Providencia</i> sp. kunnen een lichtroze ring produceren, wat als een positief resultaat moet worden beschouwd.	
Vergelijk LYS, ARG en ORN met DCB. Deze wells moeten worden bedekt met olie om geldige resultaten te kunnen verkrijgen. Paars wordt als een positief resultaat beschouwd als er wordt vergeleken met een grijze DCB-well. Grijs wordt als een positief resultaat beschouwd als er wordt vergeleken met een gele DCB-well. In het geval van niet-fermenteerders moet een positieve test aanzienlijk paarser zijn dan de basiscontrole. Als de basiscontrole paars is, is het basismedium gealkaliseerd en moeten LYS, ARG en ORN allemaal worden beschouwd als een negatief resultaat. Dit is met name het geval bij <i>Achromobacter</i> -soorten en <i>Ochrobactrum anthropi</i> .			
LYS		Paars tot grijs	Fermenteerders: Geel
ARG			Niet-fermenteerders:
ORN		Paars	Kleurloos tot grijs
TDA	Voeg 1 druppel 10% ijzerchloride toe. De kleur verandert meteen.	Alle kleuren bruin	Geel tot oranje
ESC		Lichtbruin tot zwart	Beige tot kleurloos

Well	Reagens	Positief	Negatief
VP	Voeg 1 druppel 40% KOH en 1 druppel 5% alfanafthol toe. Wacht minimaal 20 minuten om het te laten reageren.	Rood	Kleurloos
		Bepaalde niet-fermenteerders kunnen na 18 uur incubatie een lichtroze kleur produceren, wat als een negatief resultaat moet worden beschouwd.	
ONPG		Geel	Kleurloos
		Vergelijk een willekeurige heldere ONPG-well met een cetrimidewell. Noteer een positief resultaat als de ONPG (enigszins) geel is vergeleken met de cetrimidewell.	
CIT		Blauw tot blauwgroen	Groen tot geel
MAL		Alle kleuren blauw worden beschouwd als een positief resultaat	
TAR			
ACE			
CET		Groei	Geen groei
OF/G		Geel	Als de OF-base groen is: Groen tot blauw
			Als de OF-base blauw of blauwgroen is:
		Geel tot groen	Blauw
		Vergelijk OF/G-well met OF-basecontrole.	
NIT	Voeg eerst 1 druppel 0,8% zwavelzuur en vervolgens 1 druppel 0,5% N,N-dimethylalfanafthylamine toe. Wacht minimaal 5 minuten om het te laten reageren.	Rood	Kleurloos tot lichtroze
P ₄		Groei (resistent)	Geen groei (gevoelig)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Alleen voor panelherkenning door autoSCAN-4 en WalkAway-systemen.		

2. Principes van identificatiereacties

Koolhydraatfermentatie (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): De fermentatie van een specifiek koolhydraat resulteert in de vorming van zuur en een daling van de pH, hetgeen wordt gedetecteerd door een fenolrode indicator.

Ureum (URE): de enzym-urease laat ureum splijten waardoor er ammoniak ontstaat. De resulterende pH-toename wordt gedetecteerd door de fenolrode indicator.

Waterstofsulfide (H₂S): Waterstofsulfidegas wordt vervaardigd van natriumthiosulfaat en reageert in het medium met ijzerionen en produceert een zwart precipitaat.

Indool (IND): Het metabolisme van tryptofaan resulteert in de vorming van indool, hetgeen wordt gedetecteerd door de toevoeging van Kovac's reagens. Als er indool aanwezig is, ontwikkelt er zich een rode kleur.

Lysine, arginine, ornithine (LYS, ARG, ORN): Decarboxylering van deze aminozuren resulteert in de vorming van basale aminen die worden gedetecteerd door de broomcresolpaarse indicator.

Tryptofaandeaminase (TDA): Bacteriën die tryptofaan kunnen deamineren, produceren indoolpyrodruivenzuur, wat na toevoeging van ijzerchloride in het medium reageert met ammoniumijzercitraat en een bruine kleur produceert.

Esculine-hydrolyse (ESC): Hydrolyse van esculine wordt gedetecteerd door ammoniumijzercitraat in het medium, dat reageert met hydrolystische producten en vormt een zwart precipitaat.

Voges-Proskauer (VP): Acetoïne wordt vervaardigd van natriumpyruvaat en wordt aangegeven met de ontwikkeling van een rode kleur na de toevoeging van 40% kaliumhydroxide en 5% alfanafthol.

Galactosidase (ONPG): β -galactosidase hydrolyseert ortho-nitrofenyl- β -D-galactopyranoside, wat geel gekleurde ortho-nitrofenol vrijmaakt.

Citraat, malonaat, aceetamide, tartraat (CIT, MAL, ACE, TAR): Het gebruik van deze stoffen als de enige bron van koolstof voor metabolisme resulteert in een stijging van pH, wat wordt gedetecteerd door een broomthymolblauwe indicator.

Oxidatiefermentatie (OF/G): De oxidatie van glucose resulteert in de vorming van zuur en een daling van de pH, hetgeen wordt gedetecteerd door een broomthymolblauwe indicator. De OF/G is vergeleken met OF/B (base) om te bepalen of er zuur is geproduceerd.

Nitraat (NIT): Het vermogen van een organisme om nitraat te reduceren tot nitriet wordt gedetecteerd door de toevoeging van N, N-dimethylalfanafthylamine en zwavelzuur, hetgeen in de aanwezigheid van nitriet een rode kleur produceert.

Cetrimide (CET): Tolerantie voor cetrimide wordt aangetoond door groei in een Muller-Hinton-bouillon waaraan cetrimide is toegevoegd.

Penicilline, kanamycine, colistine, cefalotine, nitrofurantoïne, tobramycine (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Weerstand tegen specifieke concentraties van deze antimicrobiële stoffen wordt aangetoond door groei.

3. Identificatie van organismen

Het Biotype Lookup Program in het LabPro-informatiebeheerprogramma en op de website van Beckman Coulter kan worden gebruikt om onbekende testorganismen te identificeren. Het programma bevat een lijst met organismen en de bijbehorende waarschijnlijkheden. Organismen met de hoogste waarschijnlijkheid staan bovenaan en de cumulatieve waarschijnlijkheid is maximaal 99,9%.

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. *Haemophilus* en andere moeilijk groeiende gramnegatieve bacteriën groeien niet in een Mueller-Hinton-bouillon waaraan geen groeistimulerende stoffen zijn toegevoegd.
2. De in dit document beschreven procedures zijn alleen geschikt voor facultatieve anaerobe en aerobe gramnegatieve bacillen.
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 of de 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. Openbare gezondheidsinstanties moeten worden ingelicht over alle isolaten die vermoedelijk worden geïdentificeerd als *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* of *F. tularensis*. Voor het bevestigen van de isolaten van deze bacteriën zijn mogelijk speciale tests nodig die alleen beschikbaar zijn in referentie- of openbare gezondheidslaboratoria.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Blauw, blauwgroen, groen	Blauw, blauwgroen	Blauw, blauwgroen, groen	Blauw, blauwgroen, groen
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Grijs tot geel	Grijs tot geelgrijs	Geel	N.v.t.
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	N.v.t.
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	N.v.t.
To ₄ ²	-	-	-	N.v.t.

1. American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

2. Raadpleeg de aanvullende testtabel voor meer positieve of negatieve reacties die nodig zijn voor elke biochemische stof.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 kan na 18 uur incubatie een lichtroze kleur produceren in VP, dit moet als negatief worden geïnterpreteerd.

4. Een zacht positieve reactie met *E. coli* ATCC 25922 kan worden verkregen als panels langer dan 18 uur worden geïncubeerd.

5. Mogelijk 48 uur incubatie nodig.

N.v.t. = niet van toepassing

OPMERKING: organismen voor kwaliteitscontrole worden geselecteerd om voor positieve/negatieve reacties bij alle identificerende stoffen te zorgen. Als gevolg kan de identificatie 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

Organisme	Substraat	Verwacht resultaat
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. halotidis</i> ATCC 49138	OF/G	-

*American Type Culture Collection, Manassas, VA USA

Organisme	Substraat	Verwacht resultaat
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Gedroogde gramnegatieve identificatie – Gestroomlijnde kwaliteitscontrole (QC)-ID ¹					
Organisme voor kwaliteitscontrole (QC)	ATCC-nummer	Belangrijk indicatorsubstraat	Verwacht resultaat	Afwijkend resultaat van specificatie	Label substraat
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Ja
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Ja

1. In de gestroomlijnde kwaliteitscontrole (QC) staan de belangrijkste indicatoren voor kwaliteitscontrole per CLSI-document M50-A vermeld.⁴ Raadpleeg voordat u het gestroomlijnde kwaliteitscontroleprogramma toepast het M50-A-document voor meer informatie en vraag om toestemming bij toepasselijk regelgevende instanties en controlegroepen.

PRESTATIEKENMERKEN

De prestaties van de MicroScan gedroogde gramnegatieve identificatiepanels zijn vastgesteld tijdens een multicentrisch onderzoek. De klinische isolaten en voorraadstammen werden getest op een gedroogde negatieve panel met ID-type 2 en er is gebruikgemaakt van conventionele buisjesmethoden. Zo kon een bacteriepopulatie worden bereikt zoals in een normaal klinisch laboratorium kan worden verwacht. Raadpleeg het gedeelte in de microbiologiehandleiding over gedroogde (conventionele) negatieve panels: gramnegatieve aerobe bacillen voor een uitgebreide lijst van de organismen die in de database zijn opgenomen.

Overeenstemmingspercentage met referentiemethode

Aantal getest	Aant. correcte identificatie	% correcte identificatie
609	593	97,4

REPRODUCEERBAARHEID

De reproduceerbaarheid wordt vastgesteld door het testen van meerdere replicaten onder verschillende omstandigheden (zoals panelpartijen, dagen, instrumenten, gebruikers). Hierbij kunnen kwaliteitscontrolestammen, klinische isolaten of beide worden gebruikt. De totale overeenstemming bedroeg ≥95%.

GARANTIEVERKLARING

Het systeem wordt gedekt en valt onder de voorwaarden van de garantie inbegrepen in uw contractuele overeenkomst voor het systeem of de bijbehorende reagentia. De klant is verantwoordelijk voor routineprocedures van preventief onderhoud. Reparaties die voortkomen uit het niet uitvoeren van deze onderhoudsprocedures op de aangegeven tijdsintervallen vinden plaats volgens het goeddunken van Beckman Coulter en zijn voor rekening van de klant.

MELDING AAN GEBRUIKER

Als er zich bij het gebruik van de MicroScan-panels een ernstig incident voordoet, dient u dit volgens de te melden bij Beckman Coulter en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waarin de gebruiker en/of de patiënt zich bevindt.

REVISIEGESCHIEDENIS

HERZIENING	DATUM	BESCHRIJVING
AA	Mei 2022	Eerste vrijgave
AB	December 2022	Bijgewerkt: Reproduceerbaarheid

Verklaring van symbolen

De volgende symbolen worden gebruikt om Beckman Coulter-microbiologieproducten te labelen.

Verklaring van symbolen			
Symbool	Titel van symbool	Beschrijving van norm	Standard
②	Niet hergebruiken	Geeft aan dat een medisch apparaat bedoeld is voor eenmalig gebruik, voor gebruik bij één patiënt, gedurende één procedure.	ISO 15223-1, clause 5.4.2
	Uiterste gebruiksdatum	De datum waarna het medische hulpmiddel niet meer mag worden gebruikt.	ISO 15223-1, clause 5.1.4
LOT	Batchcode	Geeft de batchcode van de fabrikant aan, waarmee de batch of partij kan worden geïdentificeerd.	ISO 15223-1, clause 5.1.5

Verklaring van symbolen			
Symbool	Titel van symbool	Beschrijving van norm	Standard
	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, clause 5.1.3
	Gemachtigde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap	Geeft de gemachtigde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap aan.	ISO 15223-1, clause 5.1.2
	Volgende 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, clause 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
	Temperatuurbepijking	Geeft de temperatuurlimieten aan waaraan een medisch hulpmiddel veilig kan worden blootgesteld.	ISO 15223-1, clause 5.3.7
	Gebruiksaanwijsties raadplegen	Geeft aan dat de gebruiker de gebruiksaanwijsties dient te raadplegen.	ISO 15223-1, clause 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, clause 5.3.1
	Deze kant boven	Geeft de juiste staande positie aan	ISO 7000: 0623
	Informatie alleen voor de VS	Geeft aan dat de informatie alleen vereist is voor producten die bedoeld zijn om verkocht te worden in de VS.	n.v.t.
	Alleen voor gebruik op voorschrift	Door de Amerikaanse FDA erkend als alternatief voor: 'Waarschuwing: Volgens de federale wetgeving van de Verenigde Staten mag dit apparaat alleen worden verkocht door of in opdracht van een bevoegde zorgverlener.'	21CFR 801.109(b)(1)
	Biologische risico's	Er zijn potentiële biologische risico's verbonden aan het medische hulpmiddel. Opmerking: Dit symbool mag niet worden verward met het 'biogevaar'-teken dat bedoeld is om op de werkplek te worden gebruikt.	ISO 15223-1, clause 5.4.1
	Gevaar	n.v.t.	n.v.t.
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 etikettering (labeling) en informatievoorziening - Deel 1: Algemene eisen.)			

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

MicroScan
Hướng dẫn quy trình định danh gram âm loại 2, LabPro ≥V5.0

REF B1017-27

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Panel định danh vi khuẩn gram âm loại 2 MicroScan là thiết bị y tế chẩn đoán in vitro dùng để định danh định tính đến cấp loài của bacilli gram âm hiếu khí sinh trưởng nhanh và kỵ khí tùy nghi từ các khuẩn lạc được phân lập. Phương pháp ủ và xác định kết quả bao gồm quy trình tự động hóa hoàn toàn trên thiết bị WalkAway hoặc ủ thủ công ngoài hệ thống và đọc kết quả trên thiết bị autoSCAN-4 hoặc đọc thủ công với tùy chọn nhập kết quả vào hệ thống quản lý dữ liệu LabPro.

ĐỐI TƯỢNG NGƯỜI DÙNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÓM TẮT VÀ NGUYÊN TẮC

Sau khi cấy truyền và thủy hóa lại bằng huyền phù sinh vật đã được chuẩn hóa, các panel được ủ ở 35°C trong tối thiểu 16 giờ. Các xét nghiệm tạo màu và xét nghiệm thông thường đã sửa đổi được dùng để định danh bacilli gram âm lên men và không lên men. Sinh vật được định danh dựa trên việc nhận biết sự thay đổi về độ pH, mức sử dụng cơ chất và sự sinh trưởng khi có chất kháng sinh sau khi ủ 16–42 giờ ở 35°C.1

Table with 4 columns: Cơ chất, Chữ viết tắt, Cơ chất, Chữ viết tắt. Rows include Glucose (GLU), Sucrose (SUC), Sorbitol (SOR), Raffinose (RAF), Rhamnose (RHA), Arabinose (ARA), Inositol (INO), Adonitol (ADO), Melibiose (MEL), Urê (URE), Hydrogen Sulfide (H2S), Indole (IND), Lysine (LYS), Arginin (ARG), Ornithine (ORN), Tryptophan Deaminase (TDA), Esculin (ESC), and various antibiotic tests like Voges-Proskauer (VP), Xitrat (CIT), Malonate (MAL), o-Nitrophenyl-β-D-Galactopyranoside (ONPG), Tartrate (TAR), Acetamide (ACE), Cetrimide (CET), OF Glucose (OF/G), Bazo' OF (OF/B), Bazo' khử cacboxylaza (DCB), Nitrat (NIT), Penicillin G 4 µg/mL1 (P4), Kanamycin 4 µg/mL1 (K4), Colistin 4 µg/mL1 (Cl4), Nitrofurantoin 64 µg/mL1 (Fd64), Cephalothin 8 µg/mL1 (Cf8), and Tobramycin 4 µg/mL1 (To4).

1. Các chất kháng sinh được dùng để định danh.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

Kết quả xét nghiệm định danh được sử dụng cùng với các kết quả xét nghiệm khác và các chỉ báo lâm sàng để điều chỉnh liệu pháp ở những bệnh nhân có triệu chứng.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

- Chỉ dùng cho chẩn đoán in vitro.
- 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.
- 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.
- 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.
- Chỉ sử dụng một lần. Không được sử dụng lại bất kỳ vật tư tiêu hao và panel MicroScan nào, trừ khi có ghi chú khác (ví dụ: khay).
- Sản phẩm này chứa (các) vật liệu có nguồn gốc từ động vật sống trong môi trường nuôi cấy vi sinh được khử nước. Để đảm bảo an toàn, hãy tuân thủ các nguyên tắc an toàn chung khi xử lý sản phẩm này.

BẢO QUẢN

Phải bảo quản các panel Gram âm khô ở 2–25°C.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

BẢNG 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.

THU THẬP VÀ CHUẨN BỊ MẪU XÉT NGHIỆM

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)*.²

VẬT LIỆU ĐƯỢC CUNG CẤP

Định danh gram âm loại 2 (B1017-27)

Hướng dẫn quy trình và kiểm chuẩn chất lượng

VẬT LIỆU CẦN THIẾT, NHƯNG KHÔNG ĐƯỢC CUNG CẤP

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

Sắt (III) clorua 10%, 30 mL (B1010-48A) hoặc 250 mL (B1015-48)

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

Kali hiđroxit 40%, 30 mL (B1010-43A) hoặc 250 mL (B1015-43)

Axit sulfanilic 0,8%, 30 mL (B1010-44A) hoặc 250 mL (B1015-44)

Chuẩn độ đục McFarland 0,5

Ống pipet 100 µL

Giấy nhãn mã vạch (B1018-129)

Khay phủ (B1010-56B)

Dụng cụ phòng xét nghiệm thông thường

Thuốc thử Kovac, 30 mL (B1010-41A) hoặc 250 mL (B1015-41)

Bảng kết quả thủ công (sử dụng để ghi chép kết quả đọc thủ công)

Máy đọc vi pha loãng

Dầu khoáng, 60 mL (B1010-40)

Dầu khoáng, 250 mL (B1010-40A)

Thuốc thử oxidase

Sinh vật kiểm soát chất lượng (Tham khảo phần QC của hướng dẫn này)

Mẫu báo cáo kiểm soát chất lượng

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

VẬT LIỆU DÙNG MỘT LẦN

Nước muối hấp vô trùng 0,85%, 3 mL

Đầu pipet vô trùng dùng một lần

Bộ thiết bị cấy-D (B1013-4)

Nước cấy truyền, 3 mL (B1015-2)

Nước cấy truyền có PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

Hệ thống cấy truyền Prompt® (B1026–10D)**

Đai gắn kín (B1010-51)

Nắp khay WalkAway (B1018-18)

*Chất hoạt động bề mặt PLURONIC®. Nhãn hiệu đã đăng ký của BASF Corporation, Parsippany, NJ USA.

**3M, St. Paul, MN USA

QUY TRÌNH

Chuẩn bị Panel

1. Lấy panel cần sử dụng ra khỏi nơi bảo quản. Không sử dụng nếu bao bì không còn nguyên vẹn (không kín, thủng hoặc rách).
2. Cắt mở túi và lấy panel ra. Nếu bảo quản trong tủ lạnh, hãy lấy panel ngay ra khỏi túi màng kim loại.
3. **Không sử dụng panel nếu tồn tại bất kỳ điều kiện nào sau đây:**
 - A. Không có chất hút ẩm hoặc chất hút ẩm đã bị hỏng.
 - B. Các giếng trên panel bị biến màu (ví dụ: DCB, các chất kháng sinh khác nhau).
4. 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.

Chuẩn bị môi trường cấy truyền

CLSI khuyến nghị định kỳ kiểm tra mật độ của môi trường cấy truyền bằng cách đếm khuẩn lạc. Tham khảo tài liệu M07 (ấn bản 11) của CLSI để biết số lượng khuẩn lạc theo khuyến nghị. Kết quả dự kiến cho *E. coli* ATCC 25922 phải gần xấp xỉ 5×10^5 CFU/mL đối với các nồng độ xét nghiệm cuối cùng.³ Người dùng phải thật thận trọng khi chuẩn bị môi trường cấy truyền, đặc biệt là với các phương pháp thủ công phụ thuộc vào kỹ thuật như Hệ thống Prompt hoặc môi trường cấy truyền được chuẩn bị mà không có sự hỗ trợ của thiết bị trắc quang.

1. Kỹ thuật chuẩn độ đục - Phương pháp chuẩn bị môi trường cấy truyền chính

Kỹ thuật chuẩn độ đục được khuyến nghị sử dụng cho quá trình cấy trực tiếp tất cả các loại trực khuẩn gram âm hiếu khí.

- A. 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.
- B. Nhũ hóa trong 3 mL Nước cấy truyền (nước đã khử ion bằng cách hấp).
- C. Đậy kín và lắc huyền phù trong 2–3 giây.
- D. Độ đục cuối cùng phải tương đương với độ đục của Chuẩn độ đục 0,5 McFarland. Có thể đạt được độ đục tương đương bằng cách sử dụng Máy đo độ đục MicroScan trong phạm vi $0,08 \pm 0,02$.
- E. 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 cấy trực khuẩn gram âm. Tham khảo Prompt Inoculation procedural manual (Hướng dẫn quy trình Cấy truyền Prompt) để biết cách sử dụng đúng Hệ thống Prompt.

GHI CHÚ: 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 và độ nhạy cảm.

Xét nghiệm oxidase

Thực hiện xét nghiệm oxidase trước khi cấy trên các panel. Ghi các kết quả vào chỗ trống thích hợp trên phiếu ghi kết quả hoặc theo yêu cầu của thiết bị. Kết quả oxidase hỗ trợ việc phân tách các đơn vị phân loại và báo cáo sớm các loại vi sinh vật không lên men (ví dụ: Phức hợp *Acinetobacter baumannii*). Đối với các Hệ thống WalkAway, nên nhập các kết quả oxidase trước khi in mã vạch. Có thể ủ tiếp một số vi sinh vật không lên men đến 42 giờ, tùy thuộc vào sự sinh trưởng. Thuốc thử oxidase được khuyến nghị là tetramethyl-p-phenylene-diamine-dihydrochloride.

Thủy hóa lại/Cấy truyền panel

Thực hiện quy 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 RENOK) để biết cách sử dụng. Nếu sử dụng hệ thống thay thế, hãy thủy hóa lại bằng 115 μ L $\pm$ 10 μ L Nước cấy truyền có PLURONIC. Phải đạt được nồng độ giếng cuối cùng là $3-7 \times 10^5$ 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 một chai nhỏ giọt để nhỏ 3 giọt dầu khoáng lên các giếng GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN và DCB. 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.

GHI CHÚ: Các Hệ thống WalkAway (và các Hệ thống WalkAway được nâng cấp với tính năng phủ dầu tự động) sẽ tự động thêm dầu vào giếng thích hợp.

Đai gắn kín

Đối với riêng sinh vật gram âm dương tính với oxidase, đặt một đai gắn kín lên các giếng CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B và DCB. Lỗ định vị rộng một phần tư inch trên dải băng phải thẳng trên giếng DCB. Đối với các Hệ thống WalkAway, sử dụng nắp thay cho đai gắn kín.

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 ít nhất 16 giờ ở nhiệt độ 35°C trong máy ủ không có CO₂.

Đọc panel

Có thể đọc các panel theo cách thủ công và ghi các kết quả vào Phiếu ghi kết quả xét nghiệm panel thủ công hoặc trên thiết bị MicroScan (các Hệ thống autoSCAN-4 và WalkAway). Tham khảo Hướng dẫn vận hành để biết cách 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 khi giếng kiểm chuẩn trong suốt và giếng sinh trưởng bị đục. Không đọc panel nếu giếng kiểm chuẩn bị đục hoặc nếu không có sự sinh trưởng trong giếng sinh trưởng. Độ đục có thể ở dạng sương trắng trong toàn giếng, đốm trắng ở giữa giếng hoặc hình thành hạt mịn trong toàn giếng. Sự sinh trưởng không đủ hoặc không sinh trưởng được xác định qua độ trắng nhẹ trong giếng hoặc canh thang trong suốt.
4. Nếu đọc kết quả thủ công, hãy ghi lại kết quả trên phiếu ghi kết quả phù hợp.
5. **Đọc cơ chất định danh**
 - A. Đọc tất cả các cơ chất định danh trên nền trắng ngoại trừ CET và các chất kháng sinh được sử dụng để định danh (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) phải được đọc trên nền đen (chiếu sáng gián tiếp).
 - B. Luôn đọc các cơ chất sau đây ở 16–24 giờ: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
 - C. Nếu bất kỳ điều kiện nào sau đây là đúng:
 - a. Dương tính với GLU hoặc SUC hoặc SOR, hoặc
 - b. Dương tính với ARG và dương tính với OF/G, hoặc
 - c. Dương tính với ARG và dương tính với CET, hoặc
 - d. Dương tính với LYS, hoặc
 - e. Dương tính với ORN, hoặc
 - f. Âm tính với OXI và dương tính với OF/G, dương tính với Fd₆₄ và dương tính với MAL.

Thì hãy thêm thuốc thử và đọc các cơ chất còn lại trong khoảng 16–24 giờ ủ. Nếu không có điều kiện nào ở trên đúng, hãy ủ lại các panel thêm 24 giờ trước khi thêm thuốc thử và đọc các cơ chất còn lại.

- D. Sau khi ủ lại, nếu sinh vật vẫn không phản ứng, hãy kiểm tra để đảm bảo sinh vật đã sinh trưởng trong cacbohydrat phenol đỏ (cụ thể là, nếu không có sự sinh trưởng hay sinh trưởng kém trong môi trường kiểm chuẩn sinh trưởng Mueller-Hinton). Nếu không có sự sinh trưởng trong cacbohydrat phenol đỏ, phải nghi ngờ về sinh vật biệt dưỡng như loài *Vibrio* ưa mặn. Cần lặp lại Nhuộm gram để xác nhận đó là gram âm.
 - a. Nếu một nghi ngờ về bệnh có ý nghĩa về mặt lâm sàng do loài *Vibrio* ưa mặn, hãy xét nghiệm lại bằng cách nhũ hóa một số khuẩn lạc trong 3 mL saline vô trùng 0,85% và thực hiện thêm xét nghiệm bao gồm nuôi trong muối, theo khuyến nghị của phần mềm. 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 trong phạm vi 0,08 ± 0,02. Thủy hóa lại panel bằng 25 mL Nước cấy truyền chưa cấy có PLURONIC bằng dụng cụ RENOK. Sử dụng pipet chuyển vô trùng, thêm một giọt (45–50 µL) huyền phù saline vào mỗi giếng định danh bao gồm các giếng sinh trưởng, Cl₄, Cf₈, To₄, P₄, K₄ và Fd₆₄. Phải tuân theo tất cả các bước xử lý panel khác.
- E. Trước khi đọc, thêm các thuốc thử như sau:
 - a. Thêm 1 giọt Kali hiđroxit (KOH) 40% và 1 giọt Alpha naphthol 5% vào giếng VP. Chờ ít nhất 20 phút để phản ứng VP tiến triển.
 - b. Thêm 1 giọt Sắt (III) clorua 10% vào giếng TDA. Màu sắc sẽ hình thành ngay lập tức.

- c. Thêm 3 giọt thuốc thử Kovac MicroScan vào giếng IND. Màu sắc sẽ hình thành ngay lập tức.
GHI CHÚ: Thuốc thử Kovac MicroScan được thiết kế theo công thức đặc biệt để sử dụng với Thiết bị MicroScan. Chỉ cần sử dụng một giọt nếu đọc panel theo cách thủ công.
- d. Thêm 1 giọt Axit sulfanilic 0,8% và 1 giọt N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine 0,5% vào giếng NIT. Chờ ít nhất 5 phút trước khi đọc để phản ứng NIT tiến triển.

F. 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
GLU		Chỉ vàng đậm	Cam đến đỏ
		Một số vi khuẩn không lên men có thể tạo ra màu vàng kim và phải được xem là âm tính.	
SUC		Vàng đến vàng/cam	Cam đến đỏ
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Đỏ tươi đến hồng	Vàng, cam hoặc hồng nhạt
H ₂ S		Kết tủa đen hoặc đốm đen	Không tạo màu đen
IND	Thêm 3 giọt (hoặc một giọt nếu đọc rõ panel) thuốc thử MicroScan Kovac. Màu hình thành ngay lập tức.	Hồng đến đỏ	Vàng nhạt đến cam
		<i>Providencia</i> sp. có thể tạo ra vòng màu hồng nhạt, điều này phải được xem là dương tính.	
So sánh LYS, ARG và ORN với DCB. Các giếng này phải được phủ dầu thì kết quả mới hợp lệ. Màu tím được xem là dương tính khi so sánh với giếng DCB xám. Màu xám được xem là dương tính khi so sánh với giếng DCB vàng. Đối với các vi khuẩn không lên men, xét nghiệm dương tính phải có màu tím đậm hơn chất kiểm chuẩn bazơ. Nếu chất kiểm chuẩn bazơ có màu tím, tức là môi trường bazơ đã được kiềm hóa và phải ghi tất cả LYS, ARG và ORN là âm tính. Loài <i>Achromobacter</i> và <i>Ochrobactrum anthropi</i> có xu hướng như vậy.			
LYS		Tím đến xám	Vi khuẩn lên men:
ARG			Vàng
			Vi khuẩn không lên men:
ORN		Tím	Không màu đến xám
TDA	Thêm 1 giọt Sắt (III) clorua 10%. Màu hình thành ngay lập tức.	Mọi sắc thái nâu	Vàng đến cam
ESC		Nâu nhạt đến đen	Be đến không màu
VP	Thêm 1 giọt KOH 40% và 1 giọt Alpha naphthol 5%. Chờ ít nhất 20 phút để phản ứng tiến triển.	Đỏ	Không có màu
		Một số vi khuẩn không lên men có thể tạo ra màu hồng nhạt sau khi ủ 18 giờ và nên được xem là âm tính.	
ONPG		Vàng	Không có màu
		So sánh bất kỳ giếng ONPG có vẻ trong với giếng cetrimide. Nếu ONPG thể hiện màu vàng ở mọi sắc độ khi so sánh với giếng cetrimide, ghi là dương tính.	
CIT		Xanh lam đến xanh lam-xanh lục	Xanh lục đến vàng
MAL		Bất kỳ sắc thái xanh lam nào đều được xem là dương tính	
TAR			
ACE			

Giếng	Thuốc thử	Dương tính	Âm tính
CET		Sinh trưởng	Không sinh trưởng
OF/G		Vàng	Nếu bazơ OF màu xanh lục: Xanh lục đến xanh lam
		Vàng đến xanh lục	Nếu bazơ OF có màu xanh lam đến xanh lam-xanh lục: Xanh lam
		So sánh giếng OF/G với giếng kiểm chuẩn bazơ OF.	
NIT	Thêm 1 giọt Axit sulfanilic 0,8%, sau đó là 1 giọt N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine 0,5%. Chờ ít nhất 5 phút để phản ứng tiền triển.	Đỏ	Không màu đến hồng nhạt
P ₄ K ₄ Cl ₄ Fd ₆₄ To ₄ Cf ₈		Sinh trưởng (Đề kháng)	Không sinh trưởng (Nhạy cảm)
LOC	Chỉ để nhận biết panel của Hệ thống autoSCAN-4 và WalkAway.		

2. Nguyên lý của các phản ứng định danh

Lên men carbohydrate (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Sự lên men một carbohydrate cụ thể sẽ tạo ra axit và làm giảm độ pH được nhận biết bằng 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.

Hydro sulfua (H₂S): Khí hydro sulfua được sinh ra từ natri thiosulfat và phản ứng với các ion sắt (III) trong môi trường để tạo kết tủa màu đen.

Indole (IND): Sự chuyển hóa tryptophan dẫn đến sự hình thành indole, được phát hiện bằng cách thêm thuốc thử Kovac. Nếu có mặt indole, màu đỏ sẽ hình thành.

Lysine, Arginine, Ornithine (LYS, ARG, ORN): Các axit amin này bị khử cacboxyl tạo thành các amin cơ bản được nhận biết bằng chỉ thị bromcresol tím.

Tryptophan Deaminase (TDA): Vi khuẩn có khả năng khử amin tryptophan sản sinh ra axit indolepyruvic, phản ứng với sắt (III) amoni citrate trong môi trường sau khi thêm sắt (III) clorua để tạo màu nâu.

Thủy phân Esculin (ESC): Sự thủy phân esculin được phát hiện bằng sắt (III) amoni citrate trong môi trường, chất này phản ứng với các sản phẩm thủy phân để hình thành kết tủa màu đen.

Voges-Proskauer (VP): Acetoin được sản sinh từ natri pyruvate và được chỉ thị qua sự hình thành màu đỏ sau khi thêm Kali hydroxit 40% và Alpha naphthol 5 %.

Galactosidase (ONPG): β -galactosidase thủy phân ortho-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside, giải phóng ra ortho-nitrophenol có màu vàng.

Citrate, Malonate, Acetamide, Tartrate (CIT, MAL, ACE, TAR): Việc sử dụng các cơ chất này làm nguồn carbon duy nhất cho quá trình chuyển hóa chất dẫn đến gia tăng độ pH được phát hiện bằng chỉ thị bromthymol xanh lam.

Oxy hóa-Lên men (OF/G): Quá trình oxy hóa glucose dẫn đến hình thành axit và sự sụt giảm độ pH được phát hiện bằng chỉ thị bromthymol xanh lam. OF/G được so sánh với OF/B (bazơ) để xác định xem đã có bất kỳ axit nào được sản sinh hay không.

Nitrate (NIT): Nhận biết khả năng khử nitrat thành nitrit của sinh vật bằng cách thêm N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine và axit Sulfanilic. Chất này sẽ chuyển sang màu đỏ khi có nitrit.

Cetrimide (CET): Sự dung nạp cetrimide được thể hiện qua sự sinh trưởng trong canh thang Mueller-Hinton có bổ sung cetrimide.

Penicillin, Kanamycin, Colistin, Cephalothin, Nitrofurantoin, Tobramycin (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Độ kháng nồng độ cụ thể của các chất kháng sinh này được thể hiện bằng sự sinh trưởng.

3. Định danh sinh vật

Biotype Lookup Program trong Trình quản lý thông tin LabPro và trên trang web của Beckman Coulter được dùng để định danh các sinh vật xét nghiệm chưa xác định. Chương trình này liệt kê định danh sinh vật và xác suất tương đối theo thứ tự xác suất cao nhất. Tổng xác suất lên tới 99,9%.

Nếu xuất hiện một số kiểu sinh học cho kết quả “Very Rare Biotype” (Kiểu sinh học rất hiếm), hãy tham khảo Phần mềm LabPro (Utilities (Tiện ích)>System (Hệ thống)>Biotype Lookup (Tra cứu kiểu sinh học)), Biotype Lookup Program trên trang web của Beckman Coulter hoặc liên hệ với Nhà phân phối hay Đại diện của Beckman Coulter.

GIỚI HẠN CỦA QUY TRÌNH

1. *Haemophilus* và các vi khuẩn gram âm biệt dưỡng khác sẽ không sinh trưởng trong canh thang Mueller-Hinton khi không được bổ sung các yếu tố kích thích sinh trưởng.
2. Các quy trình được mô tả trong tài liệu này chỉ phù hợp với bacilli gram âm hiếu khí và kỵ khí tùy nghi.
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 (Chương trình Tra cứu kiểu Sinh học của MicroScan) hoặc Microbiology Manual (Hướng dẫn vi sinh)).
4. Người diễn giải kết quả xét nghiệm phải là người được đào tạo lâm sàng, phải sử dụng phán đoán, kiến thức và xét nghiệm khẳng định 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. Cần thông báo cho nhân viên y tế cộng đồng về tất cả các chủng phân lập được định danh giả định là *B. anthracis*, *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* hoặc *F. tularensis*. Để khẳng định chủng phân lập của các vi khuẩn này, có thể phải thực hiện xét nghiệm chuyên sâu chỉ có sẵn ở phòng xét nghiệm y tế cộng đồng hoặc phòng xét nghiệm tham chiếu.

KIỂM CHUẨN 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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Xanh lam, xanh lục lam, xanh lục	Xanh lam, xanh lục lam	Xanh lam, xanh lục lam, xanh lục	Xanh lam, xanh lục lam, xanh lục
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Xám đến Vàng	Xám đến Xám vàng	Vàng	Không áp dụng
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Không áp dụng
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	Không áp dụng
To ₄ ²	-	-	-	Không áp dụng

1. Bảo tàng giống chuẩn Hoa Kỳ (American Type Culture Collection), Manassas, VA USA

*Bảo tàng giống chuẩn Hoa Kỳ (American Type Culture Collection), Manassas, VA USA

- Tham khảo Bảng xét nghiệm bổ sung để biết các phản ứng dương tính hoặc âm tính bổ sung cần thực hiện cho từng chất sinh hóa.
- P. aeruginosa* ATCC 27853 có thể tạo ra màu hồng nhạt trong VP sau 18 giờ ủ, hiện tượng này cần được diễn giải là âm tính.
- Có thể thu được phản ứng dương tính yếu với *E. coli* ATCC 25922 nếu ủ các panel lâu hơn 18 giờ.
- Có thể cần ủ 48 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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. haliotis</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Định danh gram âm 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>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Có
<i>E. coli</i>	25922	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.⁴ 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 quản lý cũng như các nhóm thanh tra liên quan để xác nhận sự chấp thuận.

ĐẶC TÍNH HIỆU SUẤT

Các tuyên bố về hiệu quả đối với panel Định danh gram âm khô MicroScan đã được xác lập trong các nghiên cứu đa trung tâm. Các chủng phân lập lâm sàng và chủng gốc được xét nghiệm trên panel định danh âm khô loại 2 và qua các phương pháp sử dụng ống thông thường để bộc lộ loại quần thể vi khuẩn dự kiến trong phòng xét nghiệm lâm sàng tiêu chuẩn. Tham khảo Panel âm khô (Thông thường): Phần Gram-Negative Aerobic Bacilli (Trực khuẩn gram âm hiếu khí) của Microbiologics Information Manual (Hướng dẫn thông tin vi sinh học) để có danh sách đầy đủ các sinh vật có trong cơ sở dữ liệu.

Phần trăm tương đồng với phương pháp tham chiếu

Số lượng xét nghiệm	# định danh chính xác	% định danh chính xác
609	593	97,4

ĐỘ TÁI LẬP

Độ tái lập được thiết lập bằng cách xét nghiệm lặp lại nhiều lần trong các điều kiện khác nhau (ví dụ: lô panel, ngày, thiết bị, người dùng). Điều này có thể bao gồm các chủng QC, chủng phân lập lâm sàng hoặc cả hai. Mức đồng thuận tổng thể là ≥95%.

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.

THÔNG BÁO CHO NGƯỜI DÙNG

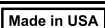
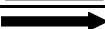
Cần thông báo bất kỳ sự cố nghiêm trọng nào xảy ra liên quan tới các panel MicroScan cho Beckman Coulter và cơ quan có thẩm quyền thuộc Quốc gia thành viên của người dùng và/hoặc bệnh nhân.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN	NGÀY	MÔ TẢ
AA	Tháng 05 năm 2022	Bản phát hành ban đầu
AB	Tháng 12 năm 2022	Đã cập nhật: Độ tái lập

Bảng chú giải các ký hiệu

Các ký hiệu sau đây có thể được sử dụng trong nhãn của các sản phẩm Vi sinh vật học của Beckman Coulter.

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, khoản 5.4.2
	Sử dụng trước ngày	Biểu thị ngày hết hạn sử dụng thiết bị y tế.	ISO 15223-1, khoản 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, khoản 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, khoản 5.1.3
	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, khoản 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, khoản 5.3.7
	Tham khảo Hướng dẫn sử dụng	Biểu thị rằng người dùng cần tham khảo hướng dẫn sử dụng.	ISO 15223-1, khoản 5.4.3
	Dấu CE	Dấu quy định tuân thủ ở Châu Âu	không áp dụng
	Thành phần	không áp dụng	không áp dụng
	Hóa chất bên trong (bao bì)	Chất kháng sinh (viết tắt)	không áp dụng
	Hóa chất bên trong (bao bì)	Cơ chất định danh (viết tắt)	không áp dụng
	Bảng 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
	Thế tích hoàn nguyên	không áp dụng	không áp dụng
	Đễ 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, khoản 5.3.1
	Mặt này hướng lên trên	Biểu thị cách đặt thùng hàng thẳng đứng đúng hướng	ISO 7000: 0623
	Thông tin chỉ dành cho Hoa Kỳ	Cho biết các thông tin chỉ bắt buộc đối với những sản phẩm để bán ra ở Hoa Kỳ.	không áp dụng
	Chỉ dùng cho kê đơn	Được FDA Hoa Kỳ công nhận là một thay thế cho mục "Thận trọng: Luật Liên bang chỉ cho phép bác sĩ có giấy phép hành nghề bán hoặc đặt hàng thiết bị này"	21CFR 801.109(b)(1)
	Nguy hiểm sinh học	Biểu thị rằng thiết bị y tế tiềm ẩn các nguy hiểm sinh học. Ghi chú: Không nên nhầm lẫn biểu tượng này với ký hiệu "nguy cơ sinh học" được sử dụng trong môi trường làm việc.	ISO 15223-1, khoản 5.4.1
	Nguy hiểm	không áp dụng	không áp dụng

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 cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

MicroScan

Прирачник за постапки ID2 за грам-негативни микроорганизми, LabPro ≥V5,0

REF B1017-27

НАМЕНА

MicroScan панелот за негативна идентификација од тип 2 е *in vitro* дијагностички медицински уред наменет за квалитативно утврдување на идентификацијата на ниво на видови на брзорастечки аеробни и факултативно анаеробни грам-негативни бацили од изолирани колонии. Методите за инкубација и утврдување на резултатите вклучуваат целосна автоматизација на инструментите WalkAway или неавтоматска локална инкубација или со читање на инструментите autoSCAN-4 или со рачно читање со опцијата за внесување резултати во LabPro системот за управување со податоци.

НАМЕНЕТ КОРИСНИК

Овој производ е наменет за лабораториска професионална употреба.

КРАТОК ПРЕГЛЕД И ПРИНЦИП

Откако панелите се инокулирани и рехидрирани со стандардизирана суспензија на организам, тие се инкубирани најмалку 16 часови на температура од 35°C. За идентификација на ферментативни и неферментативни грам-негативни бацили се користат модифицирани конвенционални и хромогени тестови. Идентификацијата се заснова врз откривањето на промените во pH вредностите, искористувањето на супстратот и растот во присуство на антимикробни средства по 16 – 42 часови инкубација на 35°C.¹

Негативен ID панел тип 2			
Супстрати	Скрат.	Супстрати	Скрат.
Гликоза	GLU	Вогес-Проскауер	VP
Сахароза	SUC	Цитрат	CIT
Сорбитол	SOR	Малонат	MAL
Рафиноза	RAF	о-нитрофенил-β-D-галактопиранозид	ONPG
Рамноза	RHA	Тартрат	TAR
Арабиноза	ARA	Ацетамид	ACE
Инозитол	INO	Цетримид	CET
Адонитол	ADO	OF гликоза	OF/G
Мелибиоза	MEL	Подлога OF	OF/B
Уреа	URE	Подлога за декарбоксилаза	DCB
Водород сулфид	H ₂ S	Нитрат	NIT
Индол	IND	Пеницилин G 4 µg/mL ¹	P ₄
Лизин	LYS	Канамицин 4 µg/mL ¹	K ₄
Аргинин	ARG	Колистин 4 µg/mL ¹	Cl ₄
Орнитин	ORN	Нитрофурантоин 64 µg/mL ¹	Fd ₆₄
Триптофан деаминаза	TDA	Цефалотин 8 µg/mL ¹	Cf ₈
Ескулин	ESC	Тобрамицин 4 µg/mL ¹	To ₄

1. Антимикробни средства што се користат за идентификација.

КЛИНИЧКА РЕЛЕВАНТНОСТ

Резултатите од тестот за идентификација се користат заедно со други лабораториски резултати и клинички индикатори за да се прочисти терапијата кај симптоматските пациенти.

ПРЕДУПРЕДУВАЊЕ И МЕРКИ НА ПРЕТПАЗЛИВОСТ

1. Единствено за употреба 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. Само за еднократна употреба. Сите панели MicroScan и потрошните материјали не треба да се користат повторно, освен ако тоа е наведено (на пр. покриените плочи).
6. Овој производ содржи материјал(-и) од животинско потекло од дехидриран микробиолошки медиум. Следете ги општите безбедносни упатства за заштита кога ракувате со овој производ.

СКЛАДИРАЊЕ

Исушени грам-негативни панели мора да бидат складирани на 2-25°C.

КЛАСИФИКАЦИЈА НА ГХС ОПАСНОСТИ

Не е класифицирано како опасно



Листот со податоци за безбедност е достапен на beckmancoulter.com/techdocs

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).²

ОБЕЗБЕДЕНИ МАТЕРИЈАЛИ

Негативен ID тип 2 (B1017-27)

Прирачник за постапки и за контрола на квалитет

ПОТРЕБНИ МАТЕРИЈАЛИ ШТО НЕ СЕ ОБЕЗБЕДЕНИ

5% алфа-нафтол, 30 mL (B1010-42A)

10% хлорид на железо, 30 mL (B1010-48A) или 250 mL (B1015-48)

0,5% N,N-диметил-алфа-нафтиламин, 30 mL (B1010-45A) или 250 mL (B1015-45)

40% калиум хидроксид, 30 mL (B1010-43A) или 250 mL (B1015-43)

0,8% сулфанилска киселина, 30 mL (B1010-44A) или 250 mL (B1015-44)

Макфарландов стандард на заматеност 0,5

Пипетор од 100 µL

Хартија за бар-код лепенки (B1018-129)

Садови со капак (B1010-56B)

Општа лабораториска опрема

Реагенс на Ковач, 30 mL (B1010-41A) или 250 mL (B1015-41)

Рачни работни листови за панели (се користат за запишување на резултати што рачно се читаат)

Прикажувач на микроразредување

Минерално масло, 60 mL (B1010-40)

Минерално масло, 250 mL (B1010-40A)

Реагенс за оксидаза

Организми за контрола на квалитет (видете го делот за QC во овој прирачник)

Формулари за известување за контрола на квалитет

Комплет за капење реагенси (B1013-12A)

RENOK – рехидратор/Инокулатор (B1018-14) или еквивалентен

Мерач на заматеноста

Вртежна мешалка

МАТЕРИЈАЛИ ЗА ЕДНА УПОТРЕБА

0,85% автоклавиран физиолошки раствор, 3 mL

Стерилни врвови за пипети за една употреба

Комплет на инокулатори-D (B1013-4)

Вода за инокулум, 3 mL (B1015-2)

Вода за инокулум со PLURONIC®, 25 mL (B1015-7)*

*PLURONIC® Сурфактанти. Регистриран заштитен знак на BASF Corporation, Парсипани, Њу Џерси, САД.

Систем за инокулација Prompt® (B1026-10D)**

Ленти за запечатување (B1010-51)

Капаи за садови WalkAway (B1018-18)

ПРОЦЕДУРА

Подготовка на панел

1. Извадете ги панелите што ќе се користат од склад. Не користете ако е загрозен интегритетот на амбалажата (незапечатена, продупчена или скината).
2. Исечете ја кесичката и извадете го панелот. Ако е чуван во фрижидер, веднаш извадете го панелот од кесичката со фолија.
3. **Панелите не треба да се користат ако постои некој од следниве услови:**
 - A. Нема десикант или е скршен.
 - B. Бунарчињата на панелите ја губат бојата (на пример, DCB, различни антимицробни средства).
4. 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.

Подготовка на инокулум

CLSI препорачува периодична проверка на густините на инокулумот со пребројување на колониите. За препораки за пребројување на колониите, видете го документот на CLSI, M07, 11. издание. Очекуваните резултати за *E. coli* ATCC 25922 треба да бидат блиску до 5×10^5 CFU/mL за финалните тест-концентрации.³ 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.

1. Стандардна техника на заматување – Примарен метод на инокулум

Стандардната техника на заматување се користи за директна инокулација на сите аеробни грам-негативни бацили.

- 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).
- C. Цврсто затворете и 2-3 секунди мешајте ја суспензијата во вртежната мешалка.
- D. 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 $0,08 \pm 0,02$.
- E. 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 инокулирање на грам-негативни бацили. 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 чувствителност и идентификација.

Тест со оксидаза

Спроведете тест на оксидаза пред инокулирање на панелите. Забележете ги резултатите во соодветниот простор на работниот лист или според барањата за инструментите. Резултатите од оксидазата поддржуваат одделување на такса и рано пријавување на неферментори (на пример, комплекс *Acinetobacter baumannii*). Кај системите WalkAway се препорачува внесување на резултатите за оксидаза пред печатење на бар-кодовите. Некои неферментори може да се задржат и до 42 часови, во зависност од растот. Препорачан реагенс за оксидаза е тетраметил-р-фенилен-диамин-дихидрохлорид.

Рехидратација/инокулација на панел

Рехидратацијата и инокулацијата се спроведуваат со системот RENOK со инокулатори-D (B1013-4). За употреба, погледнете во RENOK Operator's Manual (Прирачник за операторот RENOK). Ако се користи алтернативен систем, извршете рехидратација со $115 \mu\text{L} \pm 10 \mu\text{L}$ вода за инокулум со PLURONIC. Треба да се постигне конечна концентрација

**3M, St. Paul, MN USA

во бунарчето од 3 до 7 x 10⁵ 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. Користејќи капалка прекријте ги бунарчињата со GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN и DCB со 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: Системите WalkAway (и системите WalkAway надградени со функција на автоматско прекривање со масло) автоматски додаваат масло во соодветните бунарчиња.

Лента за запечатување

Само за оксидаза позитивни грам-негативни организми, ставете лента за запечатување над бунарчињата со CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B и со DCB. Отворот за лоцирање со големина од една четвртина инч треба да биде порамнет преку бунарчето со DCB. За системите WalkAway се користи капак наместо лента за запечатување.

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 најмалку 16 часа на 35°C во не-CO₂ инкубатор.

Читање на панелите

Панелите може да се читаат рачно, а резултатите да бидат забележани на рачен работен лист за панел или на инструментите MicroScan (системи autoSCAN-4 и WalkAway). За читање на панелите со инструменти MicroScan, видете 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 растот е заматено. Не читајте го панелот ако контролното бунарче е заматено или ако нема раст во бунарчето за раст. 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 или немањето раст се дефинира како мала белина во бунарчето или буџонот 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 CET и антимикробните средства што се користат за идентификација (Cl₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), кои треба да се читаат на црна заднина (индиректно осветлена).
- B. Следниве супстрати секогаш се читаат на 16-24 часа: GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL, P₄, K₄, Cl₄, Fd₆₄, Cf₈, To₄.
- C. Ако што било од следново е точно:
 - a. GLU, или SUC, или SOR позитивен, или
 - b. ARG позитивно и OF/G позитивно или
 - c. ARG позитивно и CET позитивно или
 - d. LYS-позитивен или
 - e. ORN позитивен или
 - f. OXI негативно и OF/G позитивно и Fd₆₄ позитивно и MAL позитивно.

Потоа, додајте реагенси и прочитајте ги преостанатите супстрати во период од 16-24 часа инкубација. Ако не е точен ни еден од горенаведените услови, повторно инкубирајте ги панелите за период од дополнителни 24 часа пред додавање реагенси и читање на преостанатите супстрати.

- D. Ако по повторената инкубација организмот и понатаму изгледа како нереактивен, проверете дали организмот покажал раст во фенол црвени јаглехидрати (особено ако има слаб раст или нема никаков раст во Милер-Хинтон контролата на раст). Ако нема раст во фенол црвени јаглехидрати, треба да постои сомнение за пребирлив организам, како што се халофилните видови *Vibrio*. Грам-боењето треба да се повтори за да се потврди дека е грам-негативно.
- a. Ако постои сомнение за клинички значајно заболување поради халофилен вид *Vibrio*, повторно извршете тестирање со емулзификување на неколку колонии во 3,0 mL стерилен 0,85% физиолошки раствор и извршете дополнително тестирање, вклучително раст во сол, како што препорачува софтверот. Крајната заматеност треба да биде еквивалентна на заматеноста според Макфарландовиот стандард на заматеност 0,5. Еквивалентна заматеност може да се постигне со употреба на MicroScan мерач на заматеност со опсег 0,08 ± 0,02. Рехидрирајте го панелот со 25 mL неинокулирана вода за инокулум со PLURONIC користејќи RENOK. Со стерилна пипета за пренесување додајте една капка (45-50 µL) суспензија на физиолошки раствор во секое бунарче вклучително и бунарчиња за раст со Cl₄, Cf₆, To₄, P₄, K₄ и со Fd₆₄. Треба да се следат сите други чекори за обработка на панел.
- E. Пред читањето додајте ги реагенсите на следниов начин:
- a. Додајте 1 капка 40% калиум хидроксид (KOH) и 1 капка 5% алфа-нафтол во бунарче со VP. Почекајте најмалку 20 минути за да се развие VP-реакција.
- b. Додајте 1 капка од 10% хлорид на железо во бунарчето со TDA. Бојата ќе се развие веднаш.
- c. Додајте 3 капки MicroScan Ковач реагенс во бунарчето со IND. Бојата ќе се развие веднаш.
- НАПОМЕНА:** MicroScan реагенсот на Ковач е специјална формула наменета за користење со инструменти MicroScan. Треба да се употреби само една капка ако панелите се читаат рачно.
- d. Додајте 1 капка 0,8% сулфанилска киселина и потоа 1 капка 0,5% N,N-диметил-алфа-нафтиламин во бунарчето со NIT. Почекајте најмалку 5 минути пред читањето за да се развие реакција на NIT.
- F. За помош во биохемиското толкување видете го делот РЕЗУЛТАТИ.

РЕЗУЛТАТИ

1. Биохемиски толкувања

Бунарче	Реагенс	Позитивно	Негативно
GLU		Само силна жолта	Портокалова до црвена
		Некои неферментори може да произведат златна боја и таа треба да се смета за негативна.	
SUC		Жолта до жолто/портокалова	Портокалова до црвена
SOR			
RAF			
RHA			
ARA			
INO			
ADO			
MEL			
URE		Цијан до розова	Жолта, портокалова или светлорозова
H ₂ S		Црн талог или црно копче	Нема поцрнување
IND	Додајте 3 капки (или една капка ако панелот се чита визуелно) на MicroScan реагенсот на Ковач. Бојата се развива веднаш.	Розова до црвена	Светложолта до портокалова
		<i>Providencia</i> sp. може да продуцира светлорозов прстен што треба да се смета за позитивен резултат.	

Бунарче	Реагенс	Позитивно	Негативно
Споредете LYS, ARG, и ORN со DCB. Овие бунарчиња мора да бидат прекриени со масло за да бидат валидни резултатите. Виолетовата се смета за позитивна кога се споредува со сиви бунарчиња со DCB. Сивата се смета за позитивна кога се споредува со жолти бунарчиња со DCB. За неферменторите позитивниот тест мора да биде значително повиолетов од основната контрола. Ако основната контрола е виолетова, базалниот медиум мора да биде алкализизиран, а LYS, ARG и ORN треба да бидат запишани како негативни. Тоа обично го прават видовите <i>Achromobacter</i> и <i>Ochrobactrum anthropi</i> .			
LYS		Виолетова до сива	Жолто
ARG			Неферментори:
ORN		Виолетова	Безбојно до зелена
TDA	Додајте 1 капка од 10% хлорид на железо. Бојата се развива веднаш.	Која било нијанса на кафеава	Жолта до портокалова
ESC		Светлокафеава до црна	Беж до безбојна
VP	Додајте 1 капка 40% КОН и 1 капка 5% алфа-нафтол. Почекајте најмалку 20 минути за да се развие реакција.	Црвена	Безбојна
		Некои неферментори може да произведат светлорозова боја по 18 часа инкубација, што треба да се смета за негативно.	
ONPG		Жолто	Безбојна
		Споредете го секое бунарче со ONPG што изгледа бистро со бунарче со цетримид. Ако ONPG покажува каква било жолта боја во споредба со бунарчето со цетримид, да се издаде како позитивен резултат.	
CIT		Сина до сино-зелена	Зелена до жолта
MAL		Секоја нијанса на сина се смета за позитивен резултат	
TAR			
ACE			
CET		Раст	Нема раст
OF/G		Жолто	Ако подлогата OF е зелена: Зелено до сино
		Жолта до зелена	Ако подлогата OF е сина или сино-зелена: Сина
		Споредете бунарче OF/G со OF основна контрола.	
NIT	Додајте 1 капка 0,8% сулфанилска киселина и потоа 1 капка 0,5% N,N-диметил-алфа-нафтиламин. Почекајте најмалку 5 минути за да се развие реакција.	Црвена	Безбојна до светлорозова
P ₄		Раст (Резистентен)	Нема раст (чувствителен)
K ₄			
Cl ₄			
Fd ₆₄			
To ₄			
Cf ₈			
LOC	Само за препознавање на панели на системите autoSCAN-4 и WalkAway.		

2. Принципи на реакциите за идентификација

Ферментација на јаглехидрати (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Ферментацијата на посебни јаглехидратни резултати во формирањето на киселина и намалувањето на pH вредноста се детектираат со фенол црвен индикатор.

Уреа (URE): Ензимот уреаза ја дели уреата, формирајќи амонијак. Резултирачкото зголемување на pH вредностите се детектира со фенол црвен индикатор.

Водород сулфид (H₂S): Гасот водород сулфид се произведува од натриум тиосулфат и реагира со јони на железо во медиумот за да произведе црн талог.

Индол (IND): Метаболизмот на триптофан резултира со формирање на индол што се детектира со додавање на реагенсот на Ковач. Ако е присутен индол, се развива црвена боја.

Лизин, аргинин, орнитин (LYS, ARG, ORN): Декарбоксилацијата на овие аминокиселини резултира со формирање на основните амини што се детектираат со индикатор со бромкрезол виолетова боја.

Триптофан деаминаза (TDA): Бактерија што е способна да го деаминира триптофанот да продуцира индол-пирогроздова киселина, која реагира со железо амониум цитрат во медиум, по додавањето на хлорид на железо за да се добие кафеава боја.

Хидролиза на ескулин (ESC): Хидролизата на ескулин се детектира со железо амониум цитрат во медиум што реагира со хидролитички производи за да формира црн талог.

Вогес-Проскауер (VP): Ацетоин се произведува од натриум пируват и индициран е со формација на црвена боја по додавањето 40% калиум хидроксид и 5% алфа нафтол.

Галактосидаза (ONPG): β-галактосидазата го хидролизира орто-нитрофенил-β-D-галактопиранозидот, со што се ослободува жолт орто-нитрофенол.

Цитрат, малонат, ацетамид, тартрат (CIT, MAL, ACE, TAR): Искористувањето на овие супстрати како единствен извор на јаглерод за метаболизам, резултира со зголемување на pH вредноста што се детектира со бромтимол син индикатор.

Оксидација-ферментација (OF/G): Оксидацијата на гликоза резултира со формирање киселина и со детектирање на намалувањето на pH вредностите со бромтимол син индикатор. OF/G се споредува со OF/B (база) за да се утврди дали е продуцирана киселина.

Нитрат (NIT): Способноста на организмот да го редуцира нитратот на нитрит се детектира со додавање на N, N-диметил-алфа-нафтиламин и сулфалинска киселина, што продуцира црвена боја во присуство на нитрит.

Цетримид (CET): Толерантноста кон цетримид се покажува со раст во бујонот на Милер-Хинтон дополнет со цетримид.

Пеницилин, канамицин, колистин, цефалотин, нитрофурантоин, тобрамицин (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Резистентноста на специфични концентрации на овие антимикробни средства е покажана со раст.

3. Идентификација на организмот

Biotype Lookup Program во LabPro Information Manager и на интернет-страницата на Beckman Coulter се користи за идентификација на непознати тест-организми. Програмата ја наведува идентификацијата на организмите и релативните веројатности, во редот на највисоката веројатност, до кумулативно вкупно 99,9%.

Ако се појави број на биотип што резултира со „многу редок биотип“, консултирајте ги софтверот LabPro (Utilities>System>Biotype Lookup), на Biotype Lookup Program на интернет-страницата на Beckman Coulter или вашиот претставник или дистрибутер на Beckman Coulter.

ОГРАНИЧУВАЊЕ НА ПОСТАПКАТА

1. *Haemophilus* и други пребирливи грам-негативни бактерии нема да растат во бујонот на Милер-Хинтон што не е дополнет со средства за збогатување на растот.
2. Постапките што се опишани овде се соодветни само за факултативни анаеробни и аеробни грам-негативни бацили.
3. Може да бидат потребни дополнителни тестови за да се утврди конечната идентификација кога ќе се добие идентификација со мала веројатност (<85%) (видете MicroScan Biotype Lookup Program (MicroScan Програма за барање биотип) или Microbiology Manual (Прирачник за микробиологија)).
4. Кога ќе треба, резултатите од тестот треба да ги толкува обучен клинички персонал што треба да примени процена, знаење и дополнителни тестови за потврдување пред да се прифати идентификацијата 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. Официјалните лица од јавното здравство треба да бидат известени за сите изолати што веројатно се идентификуваат, како *B. anthracis* spp., *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei*, или *F. tularensis*. Потврдата на

изолатите на овие бактерии може да наложи специјализирано тестирање што е достапно само во референтните лаборатории или во лабораториите од јавното здравство.

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.*

	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ¹	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. oxytoca</i> ATCC 49131	<i>P. vulgaris</i> ATCC 49132
GLU	+	-	+	+
SUC	-	-	+	+
SOR	V	-	+	-
RAF	-	-	+	-
RHA	+	-	+	-
ARA	+	-	+	-
INO	-	-	+	-
ADO	-	-	+	-
MEL	V	-	+	-
URE ²	-	V	V	V
H ₂ S	-	-	-	+
IND	+	-	+	+
LYS	+	-	+	-
ARG	-	+	-	-
ORN	+	-	-	-
TDA	-	-	-	+
ESC	-	-	+	V
VP	-	- ³	+	V
CIT	-	+	+	V
MAL	-	+	+	-
ONPG	+	-	+	-
TAR ²	- ⁴	V	V	V
ACE	-	+ ⁵	-	V
CET	-	+	-	-
OF/G ²	+	V	+	+
OF/B	Сина, сино-зелена, зелена	Сина, сино-зелена	Сина, сино-зелена, зелена	Сина, сино-зелена, зелена
P ₄ ²	+	+	+	V
NIT ²	+	V	+	+
DCB	Сива до жолта	Сива до жолто-сива	Жолто	Н/П
Cl ₄	-	-	-	+
Fd ₆₄	-	+	-	Н/П
Cf ₈ ²	V	+	V	V
K ₄ ²	V	+	V	Н/П
To ₄ ²	-	-	-	Н/П

1. American Type Culture Collection, Манасас, Вирџинија, САД

2. Податоци за дополнителни позитивни и негативни реакции според потреба за секоја биохемиска супстанција видете во табелата за дополнителни тестови.

3. *P. aeruginosa* ATCC 27853 може да произведат светлорозова боја во VP по 18 часа инкубација и тоа треба да се смета за негативен резултат.

4. Слаба позитивна реакција може да се добие со *E. coli* ATCC 25922 ако панелите се инкубираат подолго од 18 часа.

5. Може да биде потребна инкубација од 48 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>P. stuartii</i> ATCC 49809	URE	+
<i>P. putida</i> ATCC 49128	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-

*American Type Culture Collection, Манасас, Вирџинија, САД

Организам	Супстрат	Очекуван резултат
<i>S. halotus</i> ATCC 49138	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Cf ₈	-
<i>R. insidiosa</i> ATCC 49129	To ₄	+

Исушена грам-негативна идентификација – Поедноставена QC на ID ¹					
Организам за QC	ATCC број	Супстрат на клучниот индикатор	Очекуван резултат	Резултат надвор од спецификацијата	Лабилан супстрат
<i>E. coli</i>	25922	ONPG	+	-	Да
<i>E. coli</i>	25922	ARA	+	-	Да

1. Клучните индикатори за контрола на квалитетот се обезбедени со поедноставена QC според CLSI документ M50-A.⁴ 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.

КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЕРФОРМАНСИТЕ

Барањата за изведување MicroScan исушен грам-негативен идентификациски панел беа утврдени во мултицентрична студија. Клиничките изолати и соевите се тестирани на исушен негативен ID тип 2 панел и со конвенционални методологии со епрувети за да се прикаже типот на бактериската популација што се очекува во рутинска клиничка лабораторија. Целосна листа на организми што се наоѓаат во базата на податоците побарајте во исушените (конвенционални) грам-негативни панели: во делот за грам-негативни аеробни бацили во документот Microbiology Information Manual (Прирачник за микробиолошки информации).

Процентуална согласност со референтниот метод

Бр. на тестирани	# Точна идентификација	% Точна идентификација
609	593	97,4

РЕПРОДУКТИВНОСТ

Репродуктивноста се утврдува со тестирање повеќе реплики во различни услови (на пример, серии на панели, денови, инструменти, корисници). Тука може да спаѓаат сортите за QC, клиничките изолати или обете. Општиот договор беше $\geq 95\%$.

ИЗЈАВА ЗА ГАРАНЦИЈА

Системот е опфатен и подлежи на одредбите на гаранцијата што е вклучена во вашиот договор за системот или за неговите реагенси. Купувачот е одговорен за рутинските постапки за превентивно одржување. Поправките што произлегуваат од неизвршувањето на овие постапки за одржување во наведените временски интервали се вршат според одлука на Beckman Coulter на трошок на купувачот.

ИЗВЕСТУВАЊЕ ЗА КОРИСНИКОТ

Секој сериозен инцидент поврзан со панелите MicroScan треба да се пријави на Beckman Coulter и соодветниот орган на државата-членка во којашто живеат корисникот и/или пациентот.

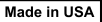
Историја на ревизии

РЕВИЗИЈА	ДАТУМ	ОПИС
AA	Мај 2022 г.	Прво издание
AB	Декември 2022 г.	Се ажурираа: Репродуктивност

Клуч за симболите

Следниве симболи може да ги најдете на ознаките на микробиолошките производи на Beckman Coulter.

Клуч за симболите			
Симбол	Назив на симболот	Опис на стандардот	Стандард
	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, клаузула 5.4.2
	Рок на употреба	Укажува на датумот по кој медицинскиот уред не треба да се користи.	ISO 15223-1, клаузула 5.1.4
	Код на серија	Го означува бројот на серијата на производителот за да може да се идентификува серијата или пакетот.	ISO 15223-1, клаузула 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, клаузула 5.1.3
	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, клаузула 5.5.5
	In Vitro дијагностички медицински уред	Укажува на медицински уред што е наменет да се користи како in vitro дијагностички медицински уред.	ISO 15223-1, клаузула 5.5.1
	Ограничување на температурата	Ги означува температурните граници на кои може безбедно да биде изложен медицинскиот уред.	ISO 15223-1, клаузула 5.3.7
	Консултирајте ги упатствата за употреба	Укажува на потребата корисникот да го консултира упатството за употреба.	ISO 15223-1, клаузула 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, клаузула 5.3.1
	Оваа страна горе	Укажува на точна исправена положба	ISO 7000: 0623
	Информации само за САД	Укажува на информации коишто се потребни само за производите наменети за продажба во САД.	н/п
	Да се користи само со рецепт	Препознаено од страна на FDA на САД како алтернатива на „Внимание: сојузните закони поставуваат ограничување овој уред да се продава само по налог на лиценциран лекар“	21CFR 801.109(b)(1)
	Биолошки ризици	Укажува дека се можни биолошки ризици поврзани со медицинскиот уред. Напомена: Симболов не треба да се помеша со знакот за „биолошка опасност“ наменет за користење на работното место.	ISO 15223-1, клаузула 5.4.1
	Опасност	н/п	н/п
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. MacFaddin, J. F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 3rd ed., Williams and Wilkens, Baltimore, MD.
2. Jorgensen, J.H., M.A. Pfaller, K.C. Carroll, G. Funke, M.L. Landry, S.S. Richter, D.W. Warnock (eds), 2015. Manual of Clinical Microbiology, 11th ed. American Society for Microbiology, Washington D. C.
3. CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically* 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
4. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems. 2008. CLSI Document M50-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA



Beckman Coulter Ireland Inc.

Lismeehan, O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ireland +(353) (0) 65 683 1100

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

+(1) 800-854-3633

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.

+(1) 800-854-3633

www.beckmancoulter.com