

Kat. č.: MLT00010

Pro mikrobiologii

Souprava NEFERMtest 24 je určena pro rutinní identifikaci gramnegativních nefermentujících bakterií a čeledi *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae* a druhu *Plesiomonas shigelloides*, především z klinického materiálu. Souprava umožňuje provést identifikaci čtyřiceti kmenů, pomocí dvacetičtyř biochemických testů. Testy jsou umístěny v jamkách dělené mikrotitrační destičky. Vždy tři řady po osmi jamkách obsahují testy pro identifikaci jednoho kmene. Nezbytným dodatkovým („off-line“) testem je OXItest. Příslušnost k nefermentujícím bakteriím lze ověřit OFtestem (fermentace glukózy), který je dodáván ve formě odlamovacích mikrotitračních jamek.

Souprava NEFERMtest 24 obsahuje:

- 10 mikrotitračních destiček (každá pro identifikaci 4 kmenů) se sušidlem
- Návod na použití s diferenciací tabulkou
- Barevná srovnávací stupnice pro soupravu NEFERMtest 24
- 40 formulářů pro záznam výsledků
- 10 PE sáčků pro inkubaci
- Skladovací sáček (na uložení nespoteřované destičky), 1 ks
- Víčko

Skladování, expirace:

NEFERMtest 24 je třeba skladovat při teplotě (+2 až +8) °C. Expirace je vyznačena na každém balení.

Doporučený pracovní postup pro NEFERMtest 24

Potřeby pro práci se soupravou NEFERMtest 24, které nejsou součástí soupravy:

- Parafínový olej sterilizovaný (kat. č. MLT00042 – 150 stanovení)
- Petriho misky s kultivačním médiem (krevní agar)
- Zkumavky s 3 ml sterilního nepufrovaného fyziologického roztoku
- Přístroj DENSILAMETER II (kat. č. INS00062)
- Automatická mikropipeta 0,1 ml, sterilní špičky
- Termostat 37 °C
- Běžné laboratorní mikrobiologické vybavení (klíčky, popisovače, kahan)

Doporučený test k ověření příslušnosti k nefermentujícím bakteriím:

- OFtest (kat. č. MLT00032 – 288 stanovení)

Dodatkový („off-line“) test:

- OXItest (kat. č. MLT00039 – 50 stanovení)
- Činidlo pro test OXIDÁZA (kat. č. MLT00022 – 250 stanovení: slouží ke zvýraznění reakce)

Poznámka: Pro správnou identifikaci je použití OXItestu nezbytné, zároveň je tento test nezbytný pro tvorbu profilu při identifikaci pomocí kódové knihy.

Identifikační pomůcky:

- Kódová kniha pro soupravu NEFERMtest 24 - umístěna na www.erbalachema.com (sekce Mikrobiologie)
- Identifikační program ErbaExpert

Upozornění:

- Souprava je určena pouze k profesionálnímu použití

Dodržujte zásady pro práci s infekčním materiálem!

Pracujete-li se soupravou poprvé nebo před každou rozsáhlejší studií doporučujeme ověřit barevné vyjádření pozitivních a negativních reakcí pomocí standardních kontrolních kmenů (viz informace dále). Ověření barevného vyšetření se dále doporučuje u každé nové šarže NEFERMtestu 24.

Izolace kultur:

- Izolace kultur se provádí konvenční bakteriologickou technikou na krevním agaru. V případě nejistoty příslušnosti k nefermentujícím bakteriím proveďte test na fermentaci glukózy OF test (odečet za max. 4 hodiny).

Příprava inokula:

- Z čisté 24 (u pomalu rostoucích z 48 h) kultury připravte v nepufrovaném fyziologickém roztoku suspenzi o objemu 3 ml. Suspenzi dobře homogenizujte.
- Zákal suspenze musí odpovídat 2 – 2,5 stupni McFarlandovy zákalové stupnice. Slabší nebo hustší suspenze může vést k falešným reakcím.

Provedení dodatkového testu OXItest:

- Z 24 hodinové čisté kultury proveďte OXItest a výsledek zaznamenejte do formuláře.

Ověření čistoty inokula:

- V případě, že si chcete ověřit čistotu inokula proveďte stejnou klíčkou jakou jste připravili suspenzi křížový rozěr. Čistotu kultury kontrolujte po 24 hodinách inkubace. V případě slabého nárustu kultury prodlužte inkubaci o dalších 24 hod. Kontrolní kultura může být použita také k provedení doplňkových testů.

Příprava destičky NEFERMtest 24:

- Otevřete aluminiový sáček odstříhnutím těsně vedle sváru a vyjměte destičku.
- Pomocí skalpelu odřízněte příslušný počet řad (stripů) destičky, odpovídající počtu testovaných kmenů (3 řady, tj. 3x8 testů, pro identifikaci jednoho kmene).
- Vyříznuté řady vyjměte z panelu, sejměte ochrannou Al fólii, řady umístěte do prázdného rámečku. V případě, že se soupravou MIKROLATEST® pracujete poprvé a prázdný rámeček nemáte k dispozici, použijte rámeček první destičky. Nevyužité stripy první destičky pak uložte ve skladovacím sáčku volně.
- Zaznamenejte čísla vyšetřovaných kultur na příslušné stripy.
- Zbytek nepoužité destičky se sušidlem vložte do přiloženého skladovacího sáčku a uložte do chladničky pro další použití; dbejte na to, aby destička byla chráněna před vlhkostí. Doporučujeme destičku po prvním použití spotřebovat do 4 týdnů.

Poznámka:

Případné nerovnoměrné rozložení substrátu v jamce nemá vliv na funkčnost testu

Inokulace:

- Důkladně homogenizujte bakteriální suspenzi ve fyziologickém roztoku.
- Inokulujte 0.1 ml suspenze do všech jamek trojstripu.
- K jamkám H, G, F, E a D prvního řádku (testy URE, ARG, ORN, LYS a AAM) přidejte po inokulaci po 2 kapkách parafinového oleje.

Poznámka:

K usnadnění inokulace a následně i odečítání je víčko destičky potisknuto zkratkami testů a symbolem: ● pro zakapání parafinovým olejem. Používáte-li víčko v průběhu práce k překrytí destičky, otřete před použitím vnitřní stranu víčka ethanolem.

Inkubace:

- Vložte rámeček destičky s naočkovanými řadami do inkubačního PE sáčku.
- Otevřený konec sáčku zahněte pod destičku, aby nedošlo k vysychání inokula.
- Vložte destičku NEFERMtestu 24 do termostatu, nastaveného na teplotu 37°C, a inkubujte po dobu 24 hodin, u pomalu rostoucích prodlužte inkubaci na 48 hodin.

Upozornění: V případě identifikace *Pseudomonas putida* prodlužte inkubaci na 48 hod., může se jednat o metabolicky méně aktivní *Pseudomonas aeruginosa*.

Hodnocení:

- Po inkubaci odečtete všechny testy a výsledek zaznamenejte do formuláře pro záznam výsledků.
- Pro hodnocení barevných reakcí použijte nejlépe Barevnou škálu nebo se orientujte podle slovního hodnocení v tabulce **Interpretace reakcí** (viz níže v návodu) nebo se orientujte podle barevných reakcí kontrolních kmenů.

Identifikace:

- Identifikaci proveďte pomocí identifikačního programu ErbaExpert nebo podle Kódové knihy pro soupravu NEFERMtest 24.
- Při identifikaci posuzujte kulturu komplexně, vezměte v úvahu původ izolátu, charakter kolonií, mikroskopii, ev. další znaky; pro identifikaci gramnegativních nefermentujících bakterií jsou důležité informace o tvorbě pigmentu ev. fluorescenci, dále růst při teplotě 42 °C, hemolýza, růst na MacConkey agaru, kataláza, pohyb, želatina, výsledky testu OXItest a výsledky OF testu, případně další znaky.
- V případě neúspěšné identifikace opakujte NEFERMtest 24, případně identifikaci doplňte o další doporučené testy.

Poznámka:

- Formulář pro záznam výsledků umožňuje snadno vytvořit tzv. profil, tj. číselný kód, podle něž lze vyhledat výsledek identifikace v diagnostickém seznamu; postup při tvorbě profilu je popsán přímo v diagnostickém seznamu.

Likvidace použitého materiálu:

- Po použití vložte destičku do nádoby pro infekční materiál a autoklávujte nebo zničte spálením.
- Prázdné papírové obaly se předají do sběru k recyklaci.

Nejčastější možné příčiny neúspěchu při identifikaci:

- Smíšená nebo kontaminovaná kultura.
- Použití inokula malé hustoty nebo malého objemu.
- Inokulum bylo rozstříknuto i do sousední řady, připravené pro další testovanou kulturu.
- Příslušné testy nebyly převrstveny parafinovým olejem.
- Nedodržení některého bodu z doporučeného pracovního postupu.
- Může se jednat o atypický kmen nebo zástupce druhu nebo příbuzného rodu, který není uveden v **Identifikační tabulce**.

Vlastnosti soupravy:

Souprava byla testována na souboru 104 kmenů.

- 82,6 % bylo správně identifikováno.

Kontrola kvality testů:

Kvalita chemikálií používaných pro výrobu destiček NEFERMtest 24 je ověřována standardním testovacím postupem. Vyrobené série destiček jsou rovněž kontrolovány funkční zkouškou pomocí kontrolních bakteriálních kmenů. V případě, že chcete provést kontrolní testování na Vašem pracovišti doporučujeme použití následujících kontrolních kmenů:

- Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960 (ATCC 10145)**
- Myroides odoratus* CCM 3296 (ATCC 4651)**
- Burkholderia cepacia* CCM 3919**
- Enterobacter (Cronobacter) sakazakii* CCM 3461**

Tyto kmeny dodává CCM – Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno,

tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz

Kmeny jsou dodávány v lyofilizovaném stavu nebo na želatinových discích.

Upozornění:

Na kontrolu funkčnosti soupravy je nutné použít vždy čerstvé izoláty kmenů CCM. **Pozor! Tyto kmeny slouží pro kontrolu funkčnosti soupravy, nikoli pro kontrolu správnosti, či úspěšnosti identifikace.**

Ochrana zdraví: Komponenty soupravy nejsou klasifikovány jako nebezpečné.

Interpretace reakcí:

Sloupec	Test	Zkrat. testu	Reakce	
			pozitivní	negativní
Řádek 1 (1., 4., 7., 10. řádek destičky)				
H	Ureáza	URE	červená, červenooranžová	žlutá, světle oranžová
G	Arginin	ARG	fialová, modrá	zelená
F	Ornithin	ORN	modrá, modrozelená	žlutozelená, zelená
E	Lysin	LYS	modrá, modrozelená	žlutozelená, zelená
D	Acetamid	AAM	modrozelená, zelená	žlutá, žlutozelená
C	β - glukosidáza	bGL	žlutá, nažloutlá	bezbarvá
B	NAG	NAG	žlutá, nažloutlá	bezbarvá
A	Simmons citrát	SCI	modrá, modrozelená	žlutozelená, zelená
Řádek 2 (2., 5., 8., 11. řádek destičky)				
H	Laktóza	LAC	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
G	Mannitol	MAN	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
F	Trehalóza	TRE	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
E	Xylóza	XYL	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
D	Arabinóza	ARA	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
C	α - Galaktosidáza	aGA	žlutá, nažloutlá	bezbarvá
B	β - Galaktosidáza	bGA	žlutá, nažloutlá	bezbarvá
A	Malonát	MAL	modrá, modrozelená	žlutá, zelená
Řádek 3 (3., 6., 9., 12. řádek destičky)				
H	Galaktóza	GAL	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
G	Maltóza	MLT	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
F	Cellobiosa	CEL	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
E	Sacharóza	SUC	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
D	Inositol	INO	žlutá, žlutošedá	fialová, šedofialová
C	γ -Glutamyltransferáza	gGT	žlutá, nažloutlá	bezbarvá
B	Fosfatáza	PHS	žlutá, nažloutlá	bezbarvá, lehce krémová
A	Eskulin	ESL	černá, tmavě hnědá	běžová, světle hnědá

Kontrolní kmeny:

Řádek	H	G	F	E	D	C	B	A
Pseudomonas aeruginosa CCM 1960								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	+	-	-	+	-	-	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	d	d	+	+	-	-	+
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	-	-	-	-	+	s	-
Myroides odoratus CCM 3296								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	-	-	-	-	-	+	-
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	-	-	-	-	-	-	+	-
Burkholderia cepacia CCM 3919								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	-	+	+	d	-	+	s
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	d	+	d	d	d	d	d
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	-	d	+	+	-
Enterobacter (Cronobacter) sakazakii CCM 3461								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	+	d	-	-	+	+	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	+	+	+	+	+	+	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	+	d	+	s	+

Vysvětlivky: + = pozitivní reakce - = negativní reakce s = slabě pozitivní reakce d = variabilní reakce

POUŽITÉ SYMBOLY



Katalogové číslo



In vitro diagnostikum



Výrobce



Čtěte návod k použití



Číslo šarže



Teplota skladování



Datum expirace

Kat. č.: MLT00010

Pre mikrobiológiu

Súprava NEFERMtest 24 je určená pre rutinnú identifikáciu gramnegatívnych nefermentujúcich baktérií a čel'ade *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae* a druhu *Plesiomonas shigelloides*, predovšetkým z klinického materiálu. Súprava umožňuje vykonať identifikáciu štyridsiatich kmeňov pomocou dvadsiatichštyroch biochemických testov. Testy sú umiestnené v jamkách delenej mikrotitračnej doštičky. Vždy tri rady po ôsmych jamkách obsahujú testy pre identifikáciu jedného kmeňa. Nezbytným dodatkovým („off-line“) testom je OXItest.

Príslušnosť k nefermentujúcim baktériám je možné overiť OFtestom (fermentácia glukózy), ktorý je dodávaný vo forme odlomovacích mikrotitračných jamiek.

Súprava NEFERMtest 24 obsahuje:

- 10 mikrotitračných doštičiek (každá pre identifikáciu 4 kmeňov) so sušidlom
- Návod na použitie s diferenciacnou tabuľkou
- Farebná porovnávací stupnica pre súpravu NEFERMtest24
- 10 PE vrecúšok na inkubáciu
- Skladovacie vrecúško na uloženie nepotrebovaných stripov, 1 ks
- 40 formulárov na záznam výsledkov
- Viečko

Skladovanie, expirácia:

NEFERMtest 24 skladujte pri teplote (+2 až +8) °C. Expirácia je vyznačená na každom balení.

Doporučený pracovný postup pre NEFERMtest 24

Potreby pre prácu so súpravou NEFERMtest 24, ktoré nie sú súčasťou súpravy

- Parafínový olej sterilizovaný (kat. č. MLT00042, 150 stanovení)
- Petriho misky s kultivačným médiom (krvný agar)
- Skúmavky s 3 ml **nepufrovaného** sterilného fyziologického roztoku (pre meranie v DENSILAMETER II skúmavky 100x15 mm)
- Prístroj DENSILAMETER II, kat. č. INS00062
- Automatická mikropipeta 0.1 ml, sterilné špičky
- Termostat 37 °C
- Bežné laboratórne mikrobiologické vybavenie (kľučky, popisovače, kahan)

Doporučený test k overeniu príslušnosti k nefermentujúcim baktériám:

- OFtest (kat. č. MLT00032 – 288 stanovení)

Doporučené dodatkové testy k spresneniu identifikácie:

- OXItest (kat. č. MLT00039 – 50 stanovení)
- Činidlo na test OXIDÁZA (kat. č. MLT00022 – 250 stanovení: slúži k zvýrazneniu reakcie)

Poznámka: Pre správnu identifikáciu je použitie OXItestu nevyhnutné, zároveň je tento test nevyhnutný pre tvorbu profilu pri identifikácii pomocou kódovej knihy.

Identifikačné pomôcky:

- Kódová kniha pre súpravu NEFERMtest 24 - umiestnená na www.erbalachema.com
- Identifikačný program ErbaExpert

Upozornenie:

- Súprava je určená iba k profesionálnemu použitiu

Dodržujte zásady pre prácu s infekčným materiálom!

Ak pracujete so súpravou po prvýkrát, alebo pred každou rozsiahlejšou štúdiou, doporučujeme overiť farebné vyjadrenie pozitívnych a negatívnych reakcií pomocou štandardných kontrolných kmeňov (viz ďalšie informácie). Overenie farebného vyšetrenia sa ďalej doporučuje u každej novej šarže NEFERMtestu 24.

Izolácia kultúr:

- Izolácia kultúr sa vykonáva konvenčnou bakteriologickou technikou na krvnom agare. V prípade neistoty príslušnosti k nefermentujúcim baktériám vykonajte test na fermentáciu glukózy OFtest (odčítanie za max. 4 hodiny)

Príprava inokula:

- Z čistej 24 h (u pomaly rastúcich z 48 h) kultúry pripravte vo **nepufrovanom** fyziologickom roztoku suspenziu o objeme 3ml. Suspenziu dobre homogenizujte.
- Zákal suspenzie musí odpovedať 2 – 2,5 stupni McFarlandovej zákalovej stupnice. Slabšia alebo hustejšia suspenzia môže viesť k falošným reakciám.

Vykonanie doplnkového testu OXItest:

- Z 24 hodinovej čistej kultúry vykonajte OXItest a výsledok zaznamenajte do formulára.

Overenie čistoty inokula:

- V prípade, že si chcete overiť čistotu inokula, vykonajte rovnakú kľučku, ktorou ste pripravili suspenziu krížový rozter. Čistotu kultúry kontrolujte po 24 hodinách inkubácie. V prípade slabého nárastu kultúry predĺžte inkubáciu o ďalších 24 hod. Kontrolná kultúra môže byť použitá taktiež k vykonaniu doplnkových testov.

Príprava doštičky NEFERMtest 24:

- Otvorte aluminiové vrecúško odstrihnutím tesne vedľa zvaru a vyberte doštičku.
- Pomocou skalpelu odrežte príslušný počet riadkov (stripov) doštičky, odpovedajúci počtu testovaných kmeňov (3 rady, tj. 3x8 testov, pre identifikáciu jedného kmeňa).
- Vyrezané riadky vyberte z panelu, odnítte ochrannú Al fóliu, riadky umiestnite do prázdneho rámečka. V prípade, že so súpravou MIKROLATEST® pracujete po prvýkrát a prázdny rámeček nemáte k dispozícii, použite rámeček prvej doštičky. Nevyužitú stripy prvej doštičky potom uložte v skladovacom vrecúšku voľne.
- Zaznamenajte čísla vyšetovaných kultúr na príslušné stripy.
- Zvyšok nepoužitej doštičky so sušidlom vložte do priloženého skladovacieho vrecúška a uložte do chladničky pre ďalšie použitie; dbajte na to, aby bola doštička chránená pred vlhkosťou. Doporučujeme doštičku po prvom použití spotrebovať do 4 týždňov.

Poznámka:

Prípadné nerovnomerné rozloženie substrátu v jamke nemá vplyv na funkčnosť testu.

Inokulácia:

- Dôkladne homogenizujte bakteriálnu suspenziu vo fyziologickom roztoku.
- Inokulujte 0,1 ml suspenzie do všetkých jamiek trojstripu.
- K jamkám H, G, F, E a D prvého riadku (testy URE, ARG, ORN, LYS a AAM) pridajte po inokulácii po 2 kvapkách parafínového oleja.

Poznámka: K ufaľčeniu inokulácie a následne i odčítaniu je viečko doštičky potlačené skratkami testov a symbolom ● pre zakvapkanie parafínovým olejom. Ak používate viečko v priebehu práce k prekrytiu doštičky, oprite pred použitím vnútornú stranu viečka ethanolom.

Inkubácia:

- Vložte rámeček doštičky s naočkovanými riadkami do inkubačného PE vrecúška.
- Otvorený koniec vrecúška zahnite pod doštičku, aby nedošlo k vysychaniu inokula.
- Vložte doštičku NEFERMtestu 24 do termostatu, nastaveného na teplotu 37°C, a inkubujte po dobu 24 hodín. V prípade slabého nárastu kultúry predĺžte inkubáciu o ďalších 24 hodín.

Upozornenie: V prípade identifikácie *Pseudomonas putida* predĺžte inkubáciu na 48 hod., môže sa jednať o metabolicky menej aktívny *Pseudomonas aeruginosa*.

Hodnotenie:

- Po 24 hodinách inkubácie odčítajte všetky testy a výsledok zaznamenajte do formulára pre záznam výsledkov.
- Pre hodnotenie farebných reakcií použite najlepšie Farebnú škálu alebo sa orientujte podľa slovného hodnotenia v tabuľke **Interpretácia reakcií** (viz nižšie v návode), alebo sa orientujte podľa farebných reakcií kontrolných kmeňov.

Identifikácia:

- Identifikáciu vykonajte pomocou identifikačného programu ErbaExpert alebo podľa Kódovej knihy pre súpravu NEFERMtest 24. V návode je uvedená ako orientačná pomôcka pre identifikáciu **Interpretačná tabuľka**.
- Pri identifikácii posudzujte kultúru komplexne, berte do úvahy pôvod izolátu, charakter kolónií, mikroskopiu, ev. ďalšie znaky; pre identifikáciu gramnegatívnych nefermentujúcich baktérií sú dôležité informácie o tvorbe pigmentu ev. fluorescencie, ďalej rast pri teplote 42 °C, hemolýza, rast na MacConkey agare, kataláza, pohyb, želatína, výsledky OFtestu pre odlišenie fermentujúcich baktérií a testu OXItest, prípadne ďalšie znaky.

V prípade neúspešnej identifikácie opakujte NEFERMtest 24, prípadne identifikáciu doplňte o ďalšie doporučené testy.

Poznámka:

Formulár pre záznam výsledkov umožňuje ľahko vytvoriť tzv. profil, tj. číselný kód, podľa ktorého je možné vyhľadať výsledok identifikácie v diagnostickom zozname; postup pri tvorbe profilu je popísaný priamo v diagnostickom zozname.

Likvidácia použitého materiálu:

- Po použití vložte doštičku do nádoby pre infekčný materiál a autoklávujte alebo zničte spálením.
- Prázdne papierové obaly sa odovzdávajú do zberu k recyklácii.

Najčastejšie možné príčiny neúspechu pri identifikácii:

- Zmiešaná alebo kontaminovaná kultúra.
- Použitie inokula malej hustoty alebo malého objemu.
- Inokulum bolo nastriekané aj do susedného riadku, pripraveného pre ďalšiu testovanú kultúru.
- Príslušné testy neboli prevrstvené parafínovým olejom.
- Pri hodnotení bolo činidlo nakvapkané do susedného riadku.
- Nedodržanie niektorého bodu z doporučeného pracovného postupu.
- Môže sa jednať o atypický kmeň alebo zástupcu druhu alebo príbuzného rodu, ktorý nie je uvedený v **Identifikačnej tabuľke**.

Vlastnosti súpravy:

Súprava bola testovaná na súbore 104 kmeňov.

- 82,6 % bolo správne identifikovaných.

Kontrola kvality testov:

Kvalita chemikálií používaných pre výrobu doštičiek NEFERMtest 24 je overovaná štandardným testovacím postupom. Vyrobené série doštičiek sú taktiež kontrolované funkčnou skúškou pomocou kontrolných bakteriálnych kmeňov. V prípade, že chcete vykonať kontrolné testovanie na vašom pracovisku, doporučujeme použitie nasledujúcich kontrolných kmeňov:

- Pseudomonas aeruginosa CCM 1960 (ATCC 10145)**
- Myroides odoratus CCM 3296 (ATCC 4651)**
- Burkholderia cepacia CCM 3919**
- Enterobacter (Cronobacter) sakazakii CCM 3461**

Tieto kmene dodáva CCM – Česká sbírka mikroorganizmů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz. Kmene sú dodávané v lyofilizovanom stave alebo na želatínových diskoch.

Upozornenie:

Na kontrolu funkčnosti súpravy je nutné použiť vždy čerstvé izoláty kmeňov CCM. **Pozor! Tieto kmene slúžia pre kontrolu funkčnosti súpravy, nie pre kontrolu správnosti, či úspešnosti identifikácie.**

Ochrana zdravia: Komponenty súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné.

Interpretácia reakcií:

Stípec	Test	Zkrat.	Reakcie	
			Pozitívna	Negatívna
Riadok 1 (1., 4., 7., 10. riadok doštičky)				
H	Ureáza	URE	červená, červenooranžová	žltá, svetlo oranžová
G	Arginin	ARG	fialová, modrá	zelená
F	Ornithin	ORN	modrá, modrozelená	žltozelená, zelená
E	Lysin	LYS	modrá, modrozelená	žltozelená, zelená
D	Acetamid	AAM	modrozelená, zelená	žltá, žltozelená
C	β - glukozidáza	bGL	žltá, nažltlá	bezfarebná
B	NAG	NAG	žltá, nažltlá	bezfarebná
A	Simmons citrát	SCI	modrá, modrozelená	žltozelená, zelená
Riadok 2 (2., 5., 8., 11. riadok doštičky)				
H	Laktóza	LAC	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
G	Mannitol	MAN	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
F	Trehalóza	TRE	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
E	Xylóza	XYL	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
D	Arabinóza	ARA	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
C	α - Galaktosidáza	aGA	žltá, nažltlá	bezfarebná
B	β - Galaktosidáza	bGA	žltá, nažltlá	bezfarebná
A	Malonát	MAL	modrá, modrozelená	žltá, zelená
Riadok 3 (3., 6., 9., 12. riadok doštičky)				
H	Galaktóza	GAL	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
G	Maltóza	MLT	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
F	Cellobioza	CEL	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
E	Sacharóza	SUC	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
D	Inozitol	INO	žltá, žltošedá	fialová, šedofialová
C	γ - Glutamyltransferáza	gGT	žltá, nažltlá	bezfarebná
B	Fosfatáza	PHS	žltá, nažltlá	bezfarebná, ľahko krémová
A	Eskulin	ESL	čierna, tmavo hnedá	béžová, svetlo hnedá

Kontrolné kmene:

Riadok	H	G	F	E	D	C	B	A
Pseudomonas aeruginosa CCM 1960								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	+	-	-	+	-	-	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	d	d	+	+	-	-	+
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	-	-	-	-	+	s	-
Myroides odoratus CCM 3296								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	-	-	-	-	-	+	-
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	-	-	-	-	-	-	+	-
Burkholderia cepacia CCM 3919								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	-	+	+	d	-	+	s
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	d	+	d	d	d	d	d
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	-	d	+	+	-
Enterobacter (Cronobacter) sakazakii CCM 3461								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	+	d	-	-	+	+	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	+	+	+	+	+	+	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	+	d	+	s	+

Vysvetlivky: + = pozitívna reakcia - = negatívna reakcia s = slabo pozitívna reakcia d = variabilná reakcia

POUŽITÉ SYMBOLY



Katalógové číslo



In vitro diagnostikum



Výrobca



Čítajte návod k použitiu



Číslo šarže



Teplota skladovania



Dátum expirácie



Cat. No.: MLT00010

For microbiology

The NEFERMtest 24 kit is designed for routine identification of Gramnegative non-fermenting bacteria and families *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae* and *Pleiomonas shigelloides* present mainly in clinical material. The kit enables identification of forty strains using twenty four biochemical tests. The tests are placed in the wells of a segmented microtitration plate. A strain is identified by tests placed in three rows with eight wells each. The Oxitest is an additional („off-line“) test that is essential for the identification.

A test for fermentation of glucose, supplied as OFtest in microtitration wells, can be used to confirm that the isolate belongs to non-fermenting bacteria.

The NEFERMtest 24 kit contains:

- 10 microtitration plates (each for identification of 4 strains) with desiccant
- Instructions for use with a differentiation table
- 40 record sheets
- 10 PE bags for incubation
- A storage bag (to insert any unused strips), 1 pc
- Lid
- Colour scale for NEFERMtest 24 kit

Storage, expiration:

NEFERMtest 24 must be stored at the temperature (+2 to +8) °C. The date of expiration is indicated on each package.

Recommended instructions for use for NEFERMtest 24

Material required to perform NEFERMtest 24 that is not included in the kit:

- Paraffin oil sterilised (Cat. No. MLT00042, 150 determinations)
- Petri dishes with cultivation medium (blood agar)
- Test tubes with 3 ml of sterile **unbuffered** physiological solution
- Instrument DENSILAMETER II (Cat. No. INS00062)
- Automatic micropipette 0.1 ml, sterile tips
- Incubator 37 °C
- Regular microbiological laboratory equipment (loops, markers, burner)

Recommended test to confirm that an isolate belongs to non-fermenting bacteria:

- OFtest (Cat. No. MLT00032, 288 determinations)

Additional („off-line“) tests :

- Oxitest (Cat. No. MLT00039, 50 determinations)
- Reagent for OXIDASE test (Cat. No. MLT00022, 250 determinations: it highlights the reaction)

Note: It is necessary to use Oxitest for correct identification. This test is necessary to create a profile for identification by the Code book as well.

Identification aids:

- Code Book for NEFERMtest 24 - located at www.erbalachema.com
- The ErbaExpert Identification Program

Caution:

- For professional use only

Respect the rules for work with infectious material!

We recommend to verify colour expression of positive and negative reactions on standard control organisms (see below) if you work with the kit for the first time. Further, we recommend to verify the colour of the reactions with every new batch of NEFERMtest 24.

Isolation of cultures:

- Isolation of the cultures is carried out by conventional bacteriology methods on the blood agar. To confirm that the isolates belongs to non-fermenting bacteria, perform a test for glucose fermentation OFtest (the test is read in max. 4 hours)

Preparation of inoculum:

- Prepare a bacterial suspension in a 3 ml unbuffered saline solution from a pure 24 hour culture (or 48 hour culture for slowly growing bacteria). Homogenise the suspension well.
- The suspension must have turbidity equal to the grade 2.0-2,5 of McFarland turbidity scale. The suspension of lower or higher turbidity can cause false reactions.

Performing additional test Oxitest:

- Perform an Oxitest from a 24 hour culture and record the results into a record sheet.

Confirmation of inoculum purity:

- To confirm the purity of the tested inoculum, streak out a sample from the prepared suspension using the same loop as in its preparation process. Check the culture purity after 24 hours of incubation. Incubate the plates with a weak growth for another 24 hours. Purity control culture can be used to perform additional tests as well.

Preparation of NEFERMtest 24 plate:

- Open an aluminium bag by cutting it close to the weld and take out a plate.
- Cut off a required number of rows (strips) of a plate using a scalpel in accordance with a number of tested strains (three rows, i.e. 3x8 tests for identification of one strain).
- Remove the strips from the panel, remove the adhesive aluminium foil from the strip and insert it into an empty frame. If you are working with MIKRO-LA-TEST® for the first time and an empty frame is not available, use the frame of the first plate. Insert any unused strips of the first plate into a storage bag freely.
- Record numbers of strains or isolates to be examined on the corresponding strips.
- Insert the rest of the unused strips into a storage bag with desiccant and store it in the refrigerator. Protect the plate against humidity. We recommend to use the plate within 4 weeks from the opening.

Note:

Any uneven distribution of substrate in the well does not affect the functionality of the test.

Inoculation:

- Homogenise the bacterial suspension in physiological solution well.
- Inoculate 0.1 ml of the suspension into all wells of a strip.
- Add two drops of paraffin oil to the wells H, G, F, E a D of the first row (tests URE, ARG, ORN, LYS and AAM).

Note:

The lid is labelled by test abbreviations and a graphic symbol ● for the tests with added paraffin oil to facilitate the inoculation and the reading. If you use the lid to cover the plate during the work, clean its inner side with ethanol before the use.

Incubation:

- Insert the frame with inoculated strips into a polyethylene bag.
- Fold the open end of the bag under the plate to prevent evaporation during the incubation.
- Insert the plate of NEFERMtest 24 into an incubator set up for 37 °C. Incubate it for 24 hours, extend the incubation for further 24 hours for slowly growing strains.

Note: In case of *Pseudomonas putida* identification, extend the incubation to 48 hours as it can reveal a metabolically less active *Pseudomonas aeruginosa*.



Evaluation:

Read all the tests after incubation and record the results into a record sheet.

It is the best to use the Colour scale for NEFERMtest 24 for assessment of colour reactions. You can use the table **Interpretation of reactions** (see in the Instructions for use below) or colour reactions of control strains to read the results.

Identification:

- Use the identification program ErbaExpert or the Code Book for NEFERMtest 24 for identification.
- Take into the consideration all the aspects of a culture: a source of the isolate, colony morphology, microscopy etc. Other characteristics are important in the identification of Gram-negative non-fermenting bacteria: pigment formation and fluorescence, growth at 42°C, hemolysis, growth on MacConkey agar, catalase, motility, gelatin test, results of additional tests OXItest and OFtest, etc.
- If the identification is not successful, repeat the NEFERMtest 24, or perform recommended additional tests.

Note:

Record sheets are designed to create so called profile. It is a numerical code that enables to find a result of the identification in a Code book easily. The procedure how to create a profile is described in the Code book.

Disposal of the used material:

- Insert the used plate into a jar for infectious material. Then autoclave it or incinerate it.
- Discard used paper packaging into recycling.

The most frequent causes of identification failure:

- Mixed or contaminated culture.
- Using inoculum of low density or low volume.
- Inoculum has contaminated adjacent strips used for another tested strain.
- The corresponding tests were not overlaid by paraffine oil.
- Failure to follow some of the steps in the recommended procedure.
- There may be an atypical strain or species or a representative of a species or a related genus present that is not included in the **Identification table**.

Performance of the kit:

The kit was tested on a set of 104 strains.

- The identification of 82,6% of the strains was correct.

Test quality control:

Quality of chemicals used for production of NEFERMtest 24 plates is checked by standard testing procedure. A functionality check for manufactured batches of plates is carried out on bacterial control strains.

If you want to perform quality control testing at your workplace we recommend to use the following control strains:

- *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960 (ATCC 10145)
- *Myroides odoratus* CCM 3296 (ATCC 4651)
- *Burkholderia cepacia* CCM 3919
- *Enterobacter (Cronobacter) sakazakii* CCM 3461

These strains are supplied by the CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz. The strains are supplied lyophilised or on gelatin discs.

Caution:

Only fresh isolates of CCM strains must be used to check the functionality of the kit. **These CCM control strains were selected to check the functionality of the kit only. They should not be used to check the accuracy or success of the identification.**

Health protection: Components of the kit are not classified as dangerous.

Interpretation of reactions:

Column	Test	Code	Reaction	
			positive	negative
Row 1 (1st, 4th, 7th, 10th row of the plate)				
H	Urease	URE	red, red to orange	yellow, light orange
G	Arginin	ARG	purple, blue	green
F	Ornithin	ORN	blue, blue to green	yellow to green, green
E	Lysin	LYS	blue, blue to green	yellow to green, green
D	Acetamid	AAM	blue to green, green	yellow, yellow to green
C	β - Glukosidase	bGL	yellow, yellowish	colourless
B	N-acetyl-β-D-glucosaminidase	NAG	yellow, yellowish	colourless
A	Simmons citrate	SCI	blue, blue to green	yellow to green, green
Row 2 (2nd, 5th, 8th, 11th row of the plate)				
H	Laktose	LAC	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
G	Mannitol	MAN	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
F	Trehalose	TRE	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
E	Xylosa	XYL	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
D	Arabinose	ARA	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
C	β – Galaktosidase	aGA	yellow, yellowish	colourless
B	β – Galaktosidase	bGA	yellow, yellowish	colourless
A	Malonate	MAL	blue, blue to green	yellow, green
Row 3 (3th, 6th, 9th, 12th row of the plate)				
H	Galaktose	GAL	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
G	Maltose	MLT	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
F	Cellobiose	CEL	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
E	Saccharose	SUC	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
D	Inositol	INO	yellow, yellow to grey	violet, violet to grey
C	γ -Glutamyltransferase	gGT	yellow, yellowish	colourless
B	Phosphatase	PHS	yellow, yellowish	colourless, cream-coloured
A	Esculine	ESL	black, dark brown	beige, light brown

Control strains:

Row	H	G	F	E	D	C	B	A
Pseudomonas aeruginosa CCM 1960								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	+	-	-	+	-	-	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	d	d	+	+	-	-	+
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	-	-	-	-	+	s	-
Myroides odoratus CCM 3296								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	-	-	-	-	-	+	-
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	-	-	-	-	-	-	+	-
Burkholderia cepacia CCM 3919								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	-	+	+	d	-	+	s
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	d	+	d	d	d	d	d
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	-	d	+	+	-
Enterobacter (Cronobacter) sakazakii CCM 3461								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	+	d	-	-	+	+	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	+	+	+	+	+	+	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	+	d	+	s	+

Explanations: + = positive reaction - = negative reaction s = weak reaction d = variable reaction

USED SYMBOLS



Catalogue number



In vitro diagnostics



Manufacturer



See instruction for use



Lot number



Storage temperature



Expiry date

Кат. N.: MLT00010

Для микробиологии

Набор НЕФЕРМтест 24 предназначен для рутинной идентификации грамотрицательных неферментирующих бактерий, а также представителей семейства *Vibrionaceae* (родов *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*), наиболее часто выделяемых из клинического материала. Набор содержит 10 стриппированных планшетов (по 4 стрипа на каждом) для идентификации соответственно 40 культур по 24 биохимическим тестам (3 ряда по 8 тестов). Тест на выявление цитохромоксидазы должен быть выполнен дополнительно до проведения идентификации на НЕФЕРМтесте 24 с помощью полосок ОКСИтест.

Тест для определения способности ферментировать глюкозу (ОФ-тест, выполняемый микрометодом в планшете; поставляется отдельно), также необходимо провести для подтверждения выделенного изолята к неферментирующим бактериям.

Набор НЕФЕРМтест24 содержит:

- 10 микротитровальных пластинок (каждая для идентификации 4 штаммов) с силикагелем
- Инструкцию для пользователей с Идентификационной таблицей
- 40 бланков для регистрации результатов
- 10 полиэтиленовых пакетиков для инкубации
- Пакет для хранения частично использованной пластинки
- Крышка
- Цветная шкала для НЕФЕРМтест 24

Хранение, срок годности:

НЕФЕРМтест 24 следует хранить при температуре от+2 до +8°C. Срок годности указан на каждой упаковке.

Инструкция к постановке НЕФЕРМтеста 24

Необходимые материалы (не входят в набор):

- Парафиновое масло, стерильное (кат. N. MLT00042, 150 определений)
- Чашки Петри с культивационной средой (кровяной агар)
- Пробирки (100x15) с 3 мл стерильного незабуференного физиологического раствора для измерения мутности суспензии на ДЕНСИЛАМЕТРЕ II
- Прибор ДЕНСИЛАМЕТР II, кат. N. INS00062
- Автоматическая микропипетка, 0,1 мл, стерильные наконечники
- Инкубатор 37°C
- Традиционное оснащение микробиологической лаборатории (петли, маркеры, горелки)

Рекомендуемый тест для подтверждения выделенных изолятов к неферментирующим бактериям:

- ОФтест (кат. N. MLT00032, 288 определений)

Дополнительные („off-line“) тесты:

- ОКСИтест (кат. N. MLT00039, 50 определений)
- Реактив для теста ОКСИДАЗА (кат. N. MLT00022, 250 определений - служит для усиления цветной реакции)

Внимание: для правильной идентификации необходимо выполнить ОКСИтест. Результаты этого теста необходимы для создания кода при работе с Книгой кодов.

Пособия для идентификации:

- Книга кодов для НЕФЕРМтест 24 - расположена по адресу www.erbalachema.com (раздел Микробиология)
- Программа идентификации ErbaExpert

Внимание:

- Тест предназначен только для квалифицированного использования в микробиологической лаборатории.

Строго соблюдать правила работы с инфицированным материалом!

Мы рекомендуем проверять изменение цвета в лунках в случае положительной и отрицательной реакции по контрольным штаммам (см. ниже). Мы советуем также проверять изменения цвета в лунках каждой новой партии НЕФЕРМтеста 24.

Выделение культуры:

- Выделите чистую культуру, пользуясь общепринятыми в микробиологии методами на рекомендованной среде (кровяной агар). Для подтверждения принадлежности выделенных изолятов проведите ОФ-тест на способность ферментировать глюкозу (считывание результатов максимально через 4 ч).

Приготовление бактериальной суспензии:

- Из чистой 24-часовой культуры (или 48-часовой — для медленно растущих микроорганизмов) приготовьте суспензию в 3 мл стерильного незабуференного физиологического раствора. Суспензию хорошо перемешайте.
- Мутность суспензии должна соответствовать 2.0-2,5 ед. по шкале МакФарланда. Использование более густой или более жидкой суспензии может привести к получению неправильных результатов.

Постановка дополнительного теста (ОКСИтест):

- Определите наличие цитохромоксидазной активности у суточной культуры, результаты запишите в бланк анализа.

Проверка чистоты культуры:

- Для проверки чистоты тестируемой культуры сделайте посев приготовленной суспензии. Оцените результаты через 24 ч (при слабом росте оставьте чашку в термостате еще на 24 ч). Полученный таким образом материал может быть использован для постановки дополнительных тестов.

Подготовка стриппированных пластинок:

- Вскройте ножницами пакет из фольги, снимите защитную фольгу с планшета.
- Достаньте необходимое количество стрипов в соответствии с количеством исследуемых штаммов (стрипы трехрядные, т.е. 3x8 тестов для идентификации одного штамма), поставьте их в рамку.
- Неиспользованные стрипы уберите в пакет для частично использованных пластинок с силикагелем, положите в холодильник для последующего использования (хранить не более 4 нед.), предохраняя от влаги.
- Напишите номера штаммов на соответствующие стрипы

Примечание:

неравномерное распределение субстрата в лунке не влияет на функциональность теста.

Инокуляция:

- Хорошо гомогенизируйте приготовленную бактериальную суспензию.
- Внесите по 100 мкл суспензии в каждую лунку стрипа.
- Добавьте по две капли парафинового масла в лунки первого ряда H, G, F, E а D (тесты URE, ARG, ORN, LYS и AAM).

Внимание:

На крышке нанесены названия тестов и графические символы ●, обозначающие лунки, в которые необходимо добавить парафиновое масло до инкубации или реактивы после инкубации. Если Вы используете крышку многократно, обработайте ее этанолом.

Инкубация:

- После инокуляции закройте пластинку крышкой или поместите ее в полиэтиленовый пакет.
- Если Вы используете пакет, загнийте открытый пакет под пластинку, чтобы инокулят не высыхал при инкубации.
- Инкубируйте при 37 °C в течение 24 ч, при получении слабого роста продлите инкубацию еще на 24 ч.

Внимание: В случае идентификации *Pseudomonas putida* продлите время инкубации до 48 ч, поскольку сходные результаты можно получить при идентификации метаболически менее активного штамма *Pseudomonas aeruginosa*.

Учет результатов:

- Считайте все результаты после инкубации и запишите их в бланк анализа.
- Для более комфортной работы (оценки изменения цвета в лунках) используйте цветную шкалу. Вы можете работать также и с таблицей **Интерпретация реакций** (см. в инструкции ниже) или оценивать изменение цвета по контрольным штаммам.

Идентификация:

- Используйте программное обеспечение ErbaExpert или книгу кодов для набора НЕФЕРМтест24.
- Учитывайте все характеристики выделенной культуры: источник выделения, морфологию колоний, данные микроскопии и т.д. При идентификации грамотрицательных неферментирующих микроорганизмов важна и другая информация: пигментообразование и флюоресценция, способность расти при 42°C, гемолиз, рост на агаре МакКонки, каталазная активность, подвижность, способность разжижать желатину а также результаты дополнительных тестов (ОКСИтест и ОФтест) и т.д.
- В случае безуспешной идентификации следует повторить НЕФЕРМтест 24 или же дополнить идентификацию другими тестами.

Примечание:

Для идентификации с помощью книги кодов необходимо подсчитать так называемый профиль (цифровой код) на бланке для регистрации результатов. Процесс создания профиля описан в книге кодов.

Дезинфекция:

- После утилизации микротестсистемы обеззараживаются в дезинфицирующем растворе либо автоклавируются.

Наиболее частые причины неудач при идентификации:

- Смешанная культура.
- Использование суспензий с недостаточной мутностью или в недостаточном объеме.
- Перекрестная контаминация суспензий в расположенных рядом лунках.
- Лунки с соответствующими тестами на заполнены парафиновым маслом.
- Неточное соблюдение требований инструкции.
- Выделен штамм с нетипичными свойствами или его данные не заложены в таблицы.

Результаты тестирования набора:

Набор был протестирован на 104 штаммах.

- 82,6% культур были проидентифицировано верно.

Контроль качества:

Химический контроль реактивов, используемых при производстве НЕФЕРМтеста 24, осуществляется стандартными методами. Произведенные партии проходят контроль с помощью контрольных бактериальных культур.

Если Вы хотите провести контроль качества на рабочем месте, мы рекомендуем использовать следующие штаммы:

- *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960 (ATCC 10145)
- *Myroides odoratus* CCM 3296 (ATCC 4651)
- *Burkholderia cepacia* CCM 3919
- *Enterobacter (Cronobacter) sakazakii* CCM 3461

Эти штаммы можно заказать в: ГИСК, Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича, г. Москва, телефон 8 (499) 241-31-19. Культуры поставляются в ампулах в лиофилизированной форме.

Внимание:

Для контроля функционирования набора должны быть использованы только свежие культуры данных штаммов. **Эти культуры не должны использоваться для проверки правильности или точности идентификации.**

Меры предосторожности: Набор реагентов не относится к категории опасных.

Интерпретация реакций:

Столбец	Тест	Код	Реакция	
			положительная	отрицательная
Ряд 1 (1-й, 4-й, 7-ой, 10-й ряд пластины)				
H	Уреаза	URE	Красный, красно-оранжевый	Желтый, светло-оранжевый
G	Аргинин	ARG	Фиолетовый, синий	Зеленый
F	Орнитин	ORN	Синий, сине-зеленый	Желто-зеленый, зеленый
E	Лизин	LYS	Синий, сине-зеленый	Желто-зеленый, зеленый
D	Ацетамид	AAM	Сине-зеленый, зеленый	Желтый, желто-зеленый
C	β - глюкозидаза	bGL	Желтый, желтоватый	Бесцветный
B	N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза	NAG	Желтый, желтоватый	Бесцветный
A	Цитрат Симмонса	SCI	Синий, сине-зеленый	Желто-зеленый, зеленый
Ряд 2 (2-й, 5-й, 8-й, 11-й ряд пластины)				
H	Лактоза	LAC	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
G	Маннитол	MAN	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
F	Трегалоза	TRE	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
E	Ксилоза	XYL	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
D	Арабиноза	ARA	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
C	α - галактозидаза	aGA	Желтый, желтоватый	Бесцветный
B	β - галактозидаза	bGA	Желтый, желтоватый	Бесцветный
A	Малонат	MAL	Синий, сине-зеленый	Желтый, зеленый
Ряд 3 (3-й, 6-ой, 9-й, 12-й ряд пластины)				
H	Галактоза	GAL	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
G	Мальтоза	MLT	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
F	Целлобиоза	CEL	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
E	Сахароза	SUC	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
D	Инозитол	INO	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
C	γ - глутамилтрансфераза	gGT	Желтый, желтоватый	Бесцветный
B	Фосфатаза	PHS	Желтый, желтоватый	Бесцветный, сливочный
A	Эскулин	ESL	Черный, темно-коричневый	Бежевый, светло-коричневый

Контрольные штаммы:

Ряд	H	G	F	E	D	C	B	A
Pseudomonas aeruginosa CCM 1960								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	+	-	-	+	-	-	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	d	d	+	+	-	-	+
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	-	-	-	-	+	s	-
Myroides odoratus CCM 3296								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	-	-	-	-	-	+	-
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	-	-	-	-	-	-	+	-
Burkholderia cepacia CCM 3919								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	-	+	+	d	-	+	s
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	d	+	d	d	d	d	d
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	-	d	+	+	-
Enterobacter (Cronobacter) sakazakii CCM 3461								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	+	d	-	-	+	+	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	+	+	+	+	+	+	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	+	d	+	s	+

Обозначения: + = положительная реакция - = отрицательная реакция s = слабая реакция d = варибельная реакция

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ



Номер каталога



Ин витро диагностика



Производитель



Перед использованием
Внимательно изучайте инструкцию



Номер партии



Температура хранения



Срок годности



Национальный знак
соответствия для Украины



Nr kat.: MLT00010

Do celów mikrobiologicznych

Zestaw NEFERMtest 24 przeznaczony jest do rutynowej identyfikacji gramujemnych bakterii niefermentujących, bakterii z rodzin *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae* i gatunku *Plesiomonas shigelloides*, przede wszystkim z materiału klinicznego. Zestaw umożliwia przeprowadzenie identyfikacji 40 szczepów, każdy za pomocą 24 testów biochemicznych. Paski rozmieszczone są w studzienkach dzielonej płytki do mikromiarczkowania. Każdy pasek (3 rzędy x 8 studzienek w każdym rzędzie) zawiera testy do identyfikacji jednego szczepu. Niezbędnym dodatkowym („off-line”) testem jest OXItest. Przynależność do bakterii niefermentujących można sprawdzić testem na fermentację glukozy dostarczanym w postaci lamanych studzienek do mikromiarczkowania OFtest.

Zestaw NEFERMtest 24 zawiera:

- 10 płytek do mikromiarczkowania (każda do identyfikacji 4 szczepów) z wysuszcaczem
- Instrukcję obsługi z tabelą różnicującą
- Porównawczą skalę barw do NEFERMtest 24
- 40 formularzy do wpisywania wyników
- 10 PE torebek do inkubacji
- Torebkę do przechowywania przeznaczoną do ułożenia nieużytej reszty płytki, 1szt.
- Pokrywę

Przechowywanie, termin ważności:

Zestaw NEFERMtest 24 należy przechowywać w lodówce w temperaturze +2 do +8 °C. Termin ważności podany jest na każdym opakowaniu.

Zalecany sposób postępowania dla NEFERMtest 24

Materiały potrzebne do pracy z zestawem NEFERMtest 24, które nie wchodzi w skład zestawu:

- Sterylizowany olej parafinowy (nr kat. MLT00042 – 150 oznaczeń/1 op.)
- Płytki Petriego z podłożem hodowlanym (agar krwawy)
- Probówki z 3 ml sterylnego niebuforowanego roztworu soli fizjologicznej
- Urządzenie do pomiaru gęstości zawiesiny bakteryjnej, np. DENSILAMETER II, nr kat. INS00062
- Urządzenie do homogenizacji zawiesiny, np. Vortex V1 (nr kat. 50001715)
- Pipeta do dozowania 0,1 ml, sterylne końcówki, np. Mikro-La-Stepper
- Ciepłarka 37 °C
- Zwyczajny sprzęt laboratoryjny (ezy, markery, palnik)

Test zalecany do sprawdzenia przynależności do bakterii niefermentujących:

- OFtest (nr kat. MLT00032 – 288 oznaczeń)

Dodatkowy „off-line“ test:

- OXItest (nr kat. MLT00039 – 50 oznaczeń)
- Odczynnik do testu OKSYDAZA (nr kat. MLT00022 – 250 oznaczeń: dla powiększenia czułości reakcji barwnej)

Uwaga:

Zastosowanie OXItestu jest niezbędne dla prawidłowej identyfikacji, jednocześnie test ten jest niezbędny dla obliczenia kodu podczas identyfikacji za pomocą książki kodów.

Niezbędne pomoce identyfikacyjne, które nie wchodzi w skład zestawu:

- Książka kodów do NEFERMtest 24 - znajduje się na stronie www.erbalachema.com (sekcja poświęcona mikrobiologii)
- Program identyfikacyjny ErbaExpert

Uwaga:

- Zestaw przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnego zastosowania

Przestrzegaj zasad pracy z materiałem zakaźnym!

W przypadku pracy z zestawem po raz pierwszy lub przed każdymi obszernymi badaniami zaleca się sprawdzić wyrażenia barw reakcji dodatnich i ujemnych za pomocą standardowych szczepów kontrolnych (patrz informacje dalej). Sprawdzenie wyrażenia barw reakcji zaleca się także w przypadku każdej nowej serii NEFERMtest 24.

Izolowanie kultury:

- Sporządzić zawiesinę bakteryjną w 3ml sterylnego niebuforowanego roztworu soli fizjologicznej z czystej, 24-godzinnej hodowli (w przypadku wolniej rosnących kultur z 48-godzinnej). Zawiesinę należy dokładnie zhomogenizować.
- Zawiesina powinna wykazywać zmętnienie równe 2 – 2,5 w skali zmętnienia McFarlanda. Słabsza lub gęstsza zawiesina może powodować fałszywe reakcje!

Przeprowadzenie dodatkowego testu OXItest:

- Z 24 godzinnej czystej kultury przeprowadzić OXItest, wynik wpisać do formularza.

Sprawdzenie czystości inokulum:

- W przypadku sprawdzania przez Państwo czystości inokulum, należy tą samą ezą, za pomocą której przygotowano zawiesinę, przeprowadzić wysiew krzyżowy. Czystość kultury należy sprawdzać po 24 godzinach inkubacji. Płytki ze słabym wzrostem należy inkubować przez kolejne 24 godziny. Kulturę kontrolną można wykorzystać do przeprowadzenia dodatkowych testów.

Przygotowanie płytki NEFERMtest 24:

- Otworzyć ALU torebkę poprzez odcięcie brzegu torebki obok miejsca spawu oraz wyjąć płytkę.
- Za pomocą skalpela należy odciąć odpowiednią ilość pasków (3 x 8 testów na potrójnym pasku przeznaczono do identyfikacji jednego szczepu).
- Odcięte paski należy wyjąć z panelu, zdjąć ochronną ALU folię, paski włożyć do pustej ramki.
- W przypadku pracy z zestawem MIKROLATEST® po raz pierwszy i niedysponowaniem wolną ramką, należy wyjąć nieużyte studzienki z pierwszej pełnej ramki, ułożyć luzem w torebce do przechowywania a ramkę tej pierwszej płytki wykorzystać do inkubacji.
- Wpisać nr badanych kultur na brzegi odpowiednich pasków.
- Resztę nieużytej płytki z wysuszcaczem włożyć do dołączonej ALU torebki przeznaczonej do włożenia nieużytej płytki i całość następnie włożyć do lodówki do kolejnego użycia; płytkę należy chronić przed wilgocią. Zalecamy użyć płytkę do 4 tygodni od pierwszego zastosowania.

Uwaga:

Ewentualne nierównomierne rozmieszczenie substratu w studzience nie ma wpływu na działanie testu.

Inokulacja:

- Zhomogenizować dokładnie zawiesinę bakteryjną w roztworze soli fizjologicznej.
- Inokulować 0,1 ml zawiesiny do wszystkich studzienek potrójnego paska
- Do pierwszych pięciu studzienek pierwszego rzędu (H, G, F, E, D z testami URE, ARG, ORN, LYS, AAM) dodać po inokulacji po 2 krople oleju parafinowego do każdej studzienki.

Uwaga: Dla ułatwienia inokulacji i następnie odczytu na pokrywie płytki są skróty nazw testów; testy zakrapiane olejem parafinowym na pokrywie płytki oznakowane są: ●
W przypadku wykorzystywania pokrywy w trakcie pracy do nakrycia płytki, należy przed zastosowaniem wewnętrzną stronę pokrywy zdezynfekować etanolem.

Inkubacja:

- Umieścić ramkę z posianymi paskami w torebce z polietylenu.
- Zagiąć otwarty brzeg torebki pod płytkę, aby uniknąć wysychania podczas inkubacji.
- Inkubować płytę NEFERMtest 24 w ciepłarnie, w temp. 37 °C przez 24 godziny; w przypadku wolniej rosnących szczepów wydłużyć inkubację do 48 godzin.

Ostrzeżenie: W przypadku identyfikacji *Pseudomonas putida* wydłużyć inkubację do 48 godzin; może występować przypadek *Pseudomonas aeruginosa* z mniejszą aktywnością metaboliczną.



Ocena:

- Po 24 godzinach inkubacji odczytać wszystkie testy, wyniki zanotować do formularza dla wpisywania wyników.
- W przypadku wizualnej oceny odczytać reakcje na podstawie Porównawczej skali barw dla NEFERMtest 24, tabeli **Interpretacja reakcji** w instrukcji obsługi i/lub reakcji barwnych szczepów kontrolnych.

Identyfikacja:

- Identyfikację przeprowadzić za pomocą programu identyfikacyjnego, ewentualnie za pomocą Książki kodów do zestawu NEFERMtest 24.
- Podczas identyfikacji należy uwzględnić wszystkie wyniki łącznie z dodatkowymi dostępnymi cechami charakterystycznymi, takimi jak pochodzenie izolowanego szczepu, charakter kolonii, badanie mikroskopowe, ewentualnie kolejne cechy; dla identyfikacji gram-ujemnych bakterii niefermentujących jest ważna informacja o wytwarzaniu pigmentu, ew. fluorescencji, następnie wzrost w temp. 42 °C, hemoliza, wzrost na podłożu MacConkey, katalaza, ruch, żelatyna, wyniki OFtestu dla odróżnienia od fermentujących bakterii i testu uzupełniającego OXItest, ewentualnie kolejne cechy.
- W razie niepowodzenia w identyfikacji bakterii powtórzyć powyższą procedurę, lub zastosować dodatkowe testy.

Uwaga:

- Podczas identyfikacji za pomocą książki kodów formularz do wpisywania wyników umożliwi łatwe utworzenie tak zwanego profilu, tj. kodu numerycznego, który umożliwia wyszukanie wyniku identyfikacji w książce kodów. Procedura tworzenia profilu jest opisana w książce kodów.

Usuwanie wykorzystanych materiałów:

- Po zużyciu wszystkie płytki i paski należy wysterylizować w autoklawie lub spalić.
- Papierowe oraz tekturowe opakowania należy przekazać do recyklingu.

Najczęstsze przyczyny niepowodzenia identyfikacji:

- Mieszana lub zanieczyszczona kultura.
- Zastosowano inokulum o niskiej gęstości lub za małą ilość inokulum.
- Inokulum zanieczyściło sąsiadujące paski.
- Odpowiednie testy nie zostały pokryte warstwą oleju parafinowego.
- Nieprzestrzeganie kolejnych etapów zalecanej procedury.
- Nietypowy szczep lub przedstawiciel gatunku lub spokrewnionego rodzaju nie znajdujący się w bazie danych zestawu.

Właściwości zestawu:

Zestaw został przetestowany za pomocą 104 szczepów.

- 82,6 % zidentyfikowano prawidłowo.

Kontrola jakości zestawów:

Zestawy są w trakcie produkcji wielokrotnie testowane. Jakość chemikaliów stosowanych do produkcji płytek NEFERMtest 24 sprawdzana jest przy użyciu standardowego sposobu testowania. Wyprodukowane partie płytek sprawdzane są także za pomocą standardowych kontrolnych szczepów bakteryjnych pod względem funkcyjności produktu końcowego. W przypadku przeprowadzenia przez Państwa testowania kontrolnego we własnym laboratorium, zalecamy zastosowanie następujących szczepów kontrolnych:

- Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960 (ATCC 10145)
- Myroides odoratus* CCM 3296 (ATCC 4651)
- Burkholderia cepacia* CCM 3919
- Enterobacter (Cronobacter) sakazakii* CCM 3461

Szczepy dostarczane są przez: CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz. Szczepy te dostarczane są w postaci liofilizowanej lub na krążkach żelatynowych.

Ostrzeżenie:

Do kontroli funkcyjności zestawu niezbędne są świeże izolaty szczepów kontrolnych CCM. **Uwaga – szczepy te służą wyłącznie do kontroli funkcyjności zestawu (nie służą do kontroli prawidłowości lub powodzenia identyfikacji!).**

Ochrona zdrowia: Odczynniki zestawu nie są klasyfikowane jako niebezpieczne.

Interpretacja reakcji:

Kolumna	Test	Skrót testu	Reakcja	
			dodatnia	ujemna
Rząd 1 (1, 4, 7 i 10 rząd płytki)				
H	Ureaza	URE	Czerwona, czerwono-pomarańczowa	Żółta, bladopomarańczowa
G	Arginina	ARG	Fioletowa, niebieska	Zielona
F	Ornityna	ORN	Niebieska, niebiesko-zielona	Żółto-zielona, zielona
E	Lizyna	LYS	Niebieska, niebiesko-zielona	Żółto-zielona, zielona
D	Acetamid	AAM	Niebiesko-zielona, zielona	Żółta, żółto-zielona
C	β - glukozydaza	bGL	Żółta, żółtawa	Bezbarwna
B	NAG	NAG	Żółta, żółtawa	Bezbarwna
A	Cytrynian Simmonsa	SCI	Niebieska, niebiesko-zielona	Żółto-zielona, zielona
Rząd 2 (2, 5, 8, 11 rząd płytki)				
H	Laktoza	LAC	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
G	Mannitol	MAN	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
F	Trehaloza	TRE	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
E	Xyloza	XYL	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
D	Arabinoza	ARA	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
C	α - Galaktozydaza	aGA	Żółta, żółtawa	Bezbarwna
B	β - Galaktozydaza	bGA	Żółta, żółtawa	Bezbarwna
A	Malonian	MAL	Niebieska, niebiesko-zielona	Żółta, zielona
Rząd 3 (3, 6, 9, 12 rząd płytki)				
H	Galaktoza	GAL	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
G	Maltoza	MLT	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
F	Cellobioza	CEL	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
E	Sacharoza	SUC	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
D	Sacharoza	SUC	Żółta, żółto-szara	Fioletowa, szarofioletowa
C	γ - Glutamylotransferaza	gGT	Żółta, żółtawa	Bezbarwna
B	Fosfataza	PHS	Żółta, żółtawa	Bezbarwna, bladokremowa
A	Eskulina	ESL	Czarna, ciemnobrązowa	Kremowa, bladobrązowa

Szczepy kontrolne:

Rząd	H	G	F	E	D	C	B	A
Pseudomonas aeruginosa CCM 1960								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	+	-	-	+	-	-	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	d	d	+	+	-	-	+
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	-	-	-	-	+	s	-
Myroides odoratus CCM 3296								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	-	-	-	-	-	+	-
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	-	-	-	-	-	-	+	-
Burkholderia cepacia CCM 3919								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	-	+	+	d	-	+	s
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	d	+	d	d	d	d	d
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	-	d	+	+	-
Enterobacter (Cronobacter) sakazakii CCM 3461								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	+	d	-	-	+	+	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	+	+	+	+	+	+	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	+	d	+	s	+

Wyjaśnienia: + = dodatnia reakcja - = ujemna reakcja s = słabo dodatnia reakcja d = reakcja zmienna

WYTWÓRCA: Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 BRNO, REPUBLIKA CZESKA

Przedstawicielstwo w Polsce: ERBA POLSKA Sp. z o.o., ul. ŚW. FILIPA 23/4, KRAKÓW, 31-150, Polska., tel. kom. +48 510 251 115, e-mail: d.trvdon@erbamannheim.com, diagnostics@erbamannheim.com, www.erbalachema.com

UŻYTE SYMBOLE



Numer Katalogowy



Urządzenie Diagnostyczne in Vitro



Producent



Patrz: Instrukcja Użycia



Numer Partii



Temperatury Graniczne



Termin Ważności

