

Kat. č.: MLT00011

**Pro mikrobiologii**

Souprava NEISSERIAtest je určena pro identifikaci zástupců rodu *Neisseria*, především *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* a *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. Souprava umožňuje provést identifikaci 36 bakteriálních kmenů, pomocí 7 biochemických testů (glukóza, fruktóza, sacharóza,  $\gamma$ -glutamyl-transferáza, tributyrin, syntéza polysacharidů). Identifikace je doplněna testy na detekci oxidázy a  $\beta$ -galaktosidázy, dodávanými ve formě dg. proužků OXltest a ONPtest. Použití dělených destiček umožňuje využít vždy jen potřebnou část destičky, odpovídající počtu testovaných kmenů.

**Souprava NEISSERIAtest obsahuje:**

- 3 mikrotitrační destičky (každá pro identifikaci 12 kmenů) se sušidlem
- 3 PE sáčky pro inkubaci
- Skladovací sáček (na uložení nespotebované destičky), 1 ks
- Návod na použití s diferenciací tabulkou
- Barevná srovnávací stupnice pro soupravu NEISSERIAtest
- 36 formulářů pro záznam výsledků
- Víčko

**Skladování, expirace:**

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

**Pracovní postup doporučený pro NEISSERIAtest****Potřeby pro práci se soupravou NEISSERIAtest, které nejsou součástí soupravy:**

- Suspenzní médium pro NEISSERIAtest (kat. č. MLT00025 – 18 stanovení)
- Lugolův roztok
- Petriho misky s agarovou půdou pro kultivaci neisserií
- Termostat, vybavení pro kultivaci v atmosféře obohacené CO<sub>2</sub>
- Automatická mikropipeta 0,1 ml, sterilní špičky
- Přístroj DENSILAMETER II (kat. č. INS00062)
- Běžné laboratorní mikrobiologické vybavení (kličky, popisovače, kahan, skalpel)

**Potřeby pro práci s doplňkovými testy, které nejsou součástí soupravy:**

- Dg. proužky OXltest (kat. č. MLT00039 – 50 stanovení)
- Dg. proužky ONPtest (kat. č. MLT00038 – 50 stanovení)
- V+K DISK (kat. č. MLT00087 – 100 stanovení)
- Činidlo pro test OXIDÁZA (kat. č. MLT00022 – 250 stanovení)

**Identifikační pomůcky, které nejsou součástí soupravy:**

- Kódová kniha pro soupravu NEISSERIAtest - umístěna na [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com) (sekce Mikrobiologie)
- Identifikační program ErbaExpert

**Upozornění:**

- Souprava je určena pouze k profesionálnímu použití

**Dodržujte zásady pro práci s infekčním materiálem!****Izolace kultur:**

Izolace kultur se provádí na čokoládovém Mueller-Hintonově agaru, krevním agaru č. 3 s růstovým obohacovadlem, resp. na půdách s inhibičním supplementem (Thayer-Martinův agar), nebo na dalších půdách doporučených pro kultivaci neisserií.

- Misky s agarem před očkovaním nechte v termostatu vyhřát na teplotu (35–37) °C
- Misky s naočkovanou kulturou inkubujte v prostředí se zvýšeným obsahem CO<sub>2</sub> a zvýšenou vlhkostí, při teplotě (35–37) °C po dobu 18–24 h
- Z čisté vyrostlé kultury proveďte Gramovo barvení, test na oxidázu ev. katalázu, mikroskopické vyšetření
- Gramnegativní koky ev. diplokoky s pozitivní oxidázou a katalázou identifikujte pomocí soupravy NEISSERIAtest (*N. elongata* tvoří tyčky, kataláza negativní)

**Poznámka:**

V případě práce s materiálem, v němž se mohou vyskytovat smíšené kultury (např. z respirací, při použití neselektivního média), doporučujeme vyočkovat dobře izolovanou kolonii z primární kultury a provést její opakovanou kultivaci před vlastní identifikací pomocí NEISSERIAtestu.

Pro selektivní izolaci *Neisseria meningitidis* z krku lze výhodně použít diagnostický disk V+K DISK (vankomycin + kolistin), kat. č. MLT00087. V místě difúze antibiotik rostou pouze *N. meningitidis*, *N. lactamica* a kvasinky. Jejich odlišení:

- kvasinky – mikroskopicky
- *N. lactamica* – pomocí ONPtestu, kat. č. MLT00038 – do 1 h ONPG dává pozitivní reakci (žlutá barva), ONPG negativní kultury identifikovat pomocí NEISSERIAtestu
- *N. meningitidis* – (ONPG negativní.) – identifikovat pomocí NEISSERIAtestu s výsledkem do 4 h.



- Příprava destičky NEISSERIAtest:**
- Otevřete aluminiový sáček odstříhnutím těsně vedle sváru a vyjměte destičku
  - Pomocí skalpelu odřízněte příslušný počet řad (stripů) destičky, odpovídající počtu testovaných kmenů (1 řadu, tj. 1x8 testů, pro identifikaci jednoho kmene). 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.
  - Vyříznuté řady vyjměte z panelu, sejměte ochrannou Al fólii a řady umístěte do připraveného prázdného rámečku
  - Zaznamenejte čísla vyšetřovaných kultur na příslušné stripy
  - Zbytek nepoužité destičky se sušidlem vložte do přiloženého Al sáčku na uložení nezužité destičky 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.

- Příprava inokula:**
- Suspenzní médium předehřejte na (35–37) °C (současně s destičkami NEISSERIAtest)
  - Z kultury, vyrostlé na agarové půdě, připravte pomocí očkovací kličky ev. vatového tampónu v suspenzním médiu suspenzi o hustotě odpovídající minimálně 3. stupni McFarlandovy zákalové stupnice, suspenzi důkladně homogenizujte
  - Současně proveďte ze suspenze křížový roztěr na agarovou půdu pro kontrolu čistoty, ev. další testování kultury
  - V případě použití fyziologického roztoku pro ONPtest, připravte ve fyziologickém roztoku suspenzi stejné hustoty jako pro inokulaci NEISSERIAtestu

**Inokulace:**

- NEISSERIAtest inokulujte co nejdříve – ne později než 15–30 minut po přípravě suspenze
- Suspenzi před použitím důkladně protřepejte
- Inokulujte 0,1 ml suspenze do všech jamek příslušného řádku
- Dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci sousedních jamek
- Naočkovaný NEISSERIAtest překryjte víčkem
- Do zbytku suspenze v suspenzním médiu, ev. do suspenze ve fyziologickém roztoku, vložte vyžíhanou pinzetou proužek pro detekci β-galaktosidázy (ONPtest)

**Poznámka:** V případě, že víčko v průběhu práce používáte na přikrytí destičky, před použitím jeho vnitřní stranu otrete ethanolom.

**Poznámka:**

S každou sérií neznámých kmenů a vždy při použití nové šarže destiček NEISSERIAtest naočkejte současně kontrolní kmety pro ověření barevného vyjádření testů.

**Inkubace:**

- Destičku NEISSERIAtest s naočkovanými kmeny zasuňte do inkubačního PE sáčku
- Otevřený konec sáčku zahněte pod destičku, aby nedošlo k vysychání inokula
- Zkumavky s proužkem ONPtestu ponechejte ve stojánku
- NEISSERIAtest i proužek ONPtestu ve zbytku suspenze inkubujte v obyčejné atmosféře při (35–37) °C, po dobu 24 h, v případě použití dostatečně husté suspenze kmene lze ev. provést předběžné hodnocení po 4 h inkubace (bez testu SPS, jamka A; SPS odečítejte až po 24 h inkubace)

**Hodnocení:**

- Odečtěte testy GLU, MLT, FRU, SUC, GGT, TRB (jamky G – B) a ONP (proužek ONPtestu) a výsledky zaznamenejte do protokolu pro záznam výsledků
- Do jamky s testem SPS (jamka A) přikápněte po jedné kapce Lugolova roztoku, odečtěte reakci a zapište do protokolu pro záznam výsledků

**Poznámka:**

- Při hodnocení testů na utilizaci cukrů (jamky G – D) vždy porovnávejte zbarvení reakcí s negativní kontrolou v jamce H. Každou změnu barvy těchto cukrů ve srovnání s negativní kontrolou v jamce H hodnotte jako pozitivní reakci. Pro hodnocení barevného vyjádření reakcí dále slouží tabulka „Interpretace reakcí“, barevná srovnávací stupnice, popřípadě se lze orientovat podle barevných reakcí kontrolních kmenů.

**Identifikace:**

Identifikaci proveďte pomocí „Diferenciační tabulky“;

- Při identifikaci posuzujte kulturu komplexně, tj. včetně morfologických znaků, údajů o původu izolátu atd.
- V případě neúspěšné identifikace opakujte NEISSERIAtest

**Likvidace použitého materiálu:**

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

## Doporučení pro práci s NEISSERIAtestem

Řiďte se postupem uvedeným v pracovním návodu; především při práci s kmeny *N. gonorrhoeae*, resp. *N. meningitidis*, je třeba věnovat maximální pozornost přesnému postupu:

- Použijte 24 h kulturu testovaného kmene; použití starší kultury může vést k falešně negativním výsledkům
- Teplota pro kultivaci nemá překračovat 37 °C
- Použitý materiál (suspenzní médium, destičky NEISSERIAtest) je třeba před inkubací vytemperovat, nejlépe v termostatu
- Je nutné dodržet předepsanou hustotu suspenze – minimálně 3. stupeň McFarlandovy zákalové stupnice
- Při přípravě suspenze a inokulaci destičky nesmí dojít ke zbytečným prodlevám v práci; materiál

- je třeba zpracovat a uložit do termostatu v co nejkratším čase (do 15–30 minut)
- Nedodržení pravidel pro práci může vést k falešným výsledkům

**Další možné příčiny neúspěchu při identifikaci:**

- Smíšená nebo kontaminovaná kultura
- Použití malého objemu inokula
- Inokulum bylo roztrženo i do sousední řady
- Může se jednat o atypický kmen nebo zástupce druhu, nezařazeného do diferenciační tabulky

**Vlastnosti soupravy:**

- Souprava byla testována na souboru 112 kmenů
- 98 % bylo správně identifikováno
- 2 % nebyly odlišeny

**Kontrola kvality testů:**

Kvalita chemikálií používaných pro výrobu destiček NEISSERIAtest je ověřována standardním testovacím postupem. Vyrobene série destiček jsou rovněž kontrolovány funkční zkouškou pomocí kontrolních bakteriálních kmenů. Pro práci s destičkami NEISSERIAtest na Vašem pracovišti doporučujeme použití kontrolních kmenů, uvedených v tabulce (viz níže). Také pro rutinní diagnostiku doporučujeme používat tyto standardní testovací kmeny pro ověření správnosti metodického postupu, průběhu testů a barevného vyjádření reakcí. Kontrolní kmeny lze doporučit použít s každou sérií neznámých kmenů a vždy při použití nové šarže soupravy, respektive dle validačního řádu laboratoře. Na kontrolu funkčnosti soupravy je nutné použít vždy čerstvé izoláty kontrolních kmenů. **Pozor - tyto kmeny slouží pouze pro kontrolu funkčnosti soupravy, nikoli pro kontrolu správnosti, či úspěšnosti identifikace!**

## Kontrolní kmeny

| Kmen                              | CCM  | Jamka / zkratka testu |          |          |          |          |          |          |          | Dg. proužek ONPtest |
|-----------------------------------|------|-----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------------------|
|                                   |      | H<br>NEC              | G<br>GLU | F<br>MLT | E<br>FRU | D<br>SUC | C<br>GGT | B<br>TRB | A<br>SPS |                     |
| <i>Neisseria subflava</i>         | 3482 | –                     | +        | +        | +        | +        | +        | –        | +        | –                   |
| <i>Neisseria lactamica</i>        | 4392 | –                     | +        | +        | –        | –        | –        | –        | –        | +                   |
| <i>Moraxella (B.) catarrhalis</i> | 4391 | –                     | –        | –        | –        | –        | –        | +        | –        | –                   |

Vysvětlivky: + ..... pozitivní reakce  
 – ..... negativní reakce  
 NEC..... negativní kontrola

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](mailto:ccm@sci.muni.cz).  
 Kmeny jsou dodávány v lyofilizovaném stavu nebo na želatinových discích.

**Literatura:**

Kuzemská, P. a kol.: Standardní metoda laboratorní diagnostiky nákaz vyvolaných *Neisseria meningitidis*, Příl. č. 17/1986 k Acta hyg., epidemiol. microbiol.  
 Kuzemská, P. a kol.: Laboratorní průkaz grammnegativních koků a kokobacilů  
 Mikrobiologické vyšetřovací metody, sv. 5, Avicenum, Praha 1987

Morse, S. A., and Knapp, J. S.: The genus *Neisseria*. In: The Prokaryotes. 2<sup>nd</sup> ed. Edited by E. Ballows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K. H. Schleifer. Vol. 3. p. 2495–2529. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg 1991.

**Ochrana zdraví:**

Komponenty soupravy neobsahují nebezpečné látky.

### Interpretace reakcí

| Jamka       | Test                   | Zkratka testu | Reakce                       |                                    |
|-------------|------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------------|
|             |                        |               | Pozitivní                    | Negativní                          |
| H           | Negativní kontrola     | NEC           | –                            | červená, oranžovočervená           |
| G           | Glukóza                | GLU           | žlutá, sv. oranžová          | červená, oranžovočervená           |
| F           | Maltóza                | MLT           | žlutá, sv. oranžová          | červená, oranžovočervená           |
| E           | Fruktóza               | FRU           | žlutá, sv. oranžová          | červená, oranžovočervená           |
| D           | Sacharóza              | SUC           | žlutá, sv. oranžová          | červená, oranžovočervená           |
| C           | λ-glutamyl transferasa | GGT           | žlutá, sv. žlutá             | bezbarvá                           |
| B           | Tributylin             | TRB           | žlutá, žlutooranžová         | červená, oranžovočervená, oranžová |
| A           | Syntéza polysacharidu  | SPS           | černá tmavomodrá, tmavohnědá | žlutá, hnědožlutá                  |
| Dg. proužek |                        |               |                              |                                    |
| OXItest     | cytochrome oxidase     | OXI           | tm. modrá, modrá             | šedá                               |
| ONPtest     | β-galaktosidáza        | ONP           | žlutá, sv. žlutá             | bezbarvá, zákal bakt. suspenze     |

### Diferenční tabulka

| Jamka:              | NEISSERIAtest |     |     |     |     |     |     |     | Dodatkové testy |     |                      |
|---------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------|-----|----------------------|
|                     | H             | G   | F   | E   | D   | C   | B   | A   | ONP             | DNA | Thayer-Martinův agar |
| Test:               | NEC           | GLU | MLT | FRU | SUC | GGT | TRB | SPS |                 |     |                      |
| N. gonorrhoeae      | –             | +   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –               | –   | +                    |
| N. meningitidis     | –             | +   | +   | –   | –   | +   | –   | –   | –               | –   | +                    |
| N. lactamica        | –             | +   | +   | –   | –   | –   | –   | –   | +               | –   | +                    |
| N. polysaccharea    | –             | +   | +   | –   | d   | –   | –   | +   | –               | –   | +                    |
| N. sicca+           | –             | +   | +   | +   | +   | d   | –   | +   | –               | –   | –                    |
| N. mucosa+          |               |     |     |     |     |     |     |     |                 |     |                      |
| N. subflava         | –             | +   | +   | d   | d   | d   | –   | d   | –               | –   | –                    |
| N. flavescens       | –             | –   | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –               | –   | –                    |
| N. cinerea++        | –             | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –               | –   | –                    |
| N. elongata++       |               |     |     |     |     |     |     |     |                 |     |                      |
| M. (B.) catarrhalis | –             | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –   | –               | +   | –                    |

**Vysvětlivky:** + = 75–100 % pozitivních reakcí  
 – = 0–25 % pozitivních reakcí  
 d = 26–74 % pozitivních reakcí  
 NEC = negativní kontrola  
 DNA = DNÁza  
 TMA = selektivní médium, Thayer-Martinův agar

**Poznámky:** + *N. sicca* a *N. mucosa* nelze pomocí NEISSERIAtestu odlišit  
 ++ buňky *N. cinerea* se vyskytují ve formě ztlustěných koků, v párech nebo rozptýlených shlucích  
 buňky *N. elongata* se vyskytují ve formě krátkých a štíhlých tyček, často uspořádaných jako diplobacily nebo v krátkých řetězcích

#### POUŽITÉ SYMBOLY



Katalogové číslo



In vitro diagnostikum



Výrobce



Čtete návod k použití



Číslo šarže



Teplota skladování



Datum expirace


 Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ  
 e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.eralachema.com

Datum revize: 31.1. 2018



Kat. č.: MLT00011

**Pre mikrobiológiu**

Súprava NEISSERIAtest je určená na identifikáciu zástupcov rodu *Neisseria*, predovšetkým *N. gonorrhoeae* a *N. meningitidis* *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. Súprava umožňuje vykonať identifikáciu 36-tich bakteriálnych kmeňov pomocou 7-mych biochemických testov (glukóza, fruktóza, sacharóza,  $\gamma$ -glutamyl-transferáza, tributyrín, syntéza polysacharidov). Identifikácia je doplnená testami na detekciu oxidázy a  $\beta$ -galaktozidázy, dodávanými vo forme dg. prúžkov OXItest a ONPtest. Použitie delených doštičiek umožňuje využiť vždy len potrebnú časť doštičky, odpovedajúcu počtu testovaných kmeňov.

**Súprava NEISSERIAtest obsahuje:**

- 3 mikrotitračné doštičky (každá na identifikáciu 12 kmeňov) so sušidlom
- 3 PE vrecúška na inkubáciu
- Skladovací sáčok (na uloženie nezužitkovanej doštičky), 1 ks
- Návod na použitie s diferenciačnou tabuľkou,
- Farebná porovnávací stupnica pre súpravu NEISSERIAtest
- 36 formulárov na záznam výsledkov
- Viečko

**Skladovanie, expirácia:**

NEISSERIAtest je potrebné skladovať pri teplote (+2 až +8) °C. Expirácia je vyznačená na každom balení.

**Pracovný postup doporučený pre NEISSERIAtest**

**Potreby na prácu so súpravou NEISSERIAtest, ktoré nie sú súčasťou súpravy:**

- Suspenzné médium na NEISSERIAtest (kat. č. MLT00025 – 18 stanovení)
- Lugolov roztok
- Petriho misky s agarovou pôdou na kultiváciu neisserií
- Termostat, vybavenie na kultiváciu v atmosfére obohatenej CO<sub>2</sub>
- Automatická mikropipeta 0,1 ml, sterilné špičky
- Bežné laboratorne vybavenie (očkovacie tyčinky, popisovač, kahan, skalpel)
- Prístroj DENSILAMETER II (kat. č. INS00062)

**Potreby na prácu s doplnkovými testmi, ktoré nie sú súčasťou súpravy:**

- Dg. prúžky OXItest (kat. č. MLT00039 – 50 stanovení)
- Dg. prúžky ONPtest (kat. č. MLT00038 – 50 stanovení)
- Činidlo na test OXIDÁZA (kat. č. MLT00022 – 250 stanovení)
- V+K DISK (kat. č. MLT00087 – 100 stanovení)

**Identifikačné pomôcky, ktoré nie sú súčasťou súpravy:**

- Kódová kniha pre súpravu NEISSERIAtest - umiestnená na [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com)
- Identifikačný program ErbaExpert

**Upozornenie:**

- Súprava je určená iba na profesionálne použitie

**Dodržiňte zásady bezpečnosti práce s infekčným materiálom!**

**Izolácia kultúr:**

Izolácia kultúr sa vykonáva na čokoládovom Mueller-Hintonovom agare, krvnom agare č. 3 s rastovým obohacovadlom, resp. na pôdach s inhibičným suplementom (Thayer-Martinov agar), alebo na ďalších pôdach odporučených na kultiváciu neisserií.

- Misky s agarom pred očkovaním nechajte v termostate vyhriať na teplotu (35–37) °C
- Misky s naočkovanou kultúrou inkubujte v prostredí so zvýšeným obsahom CO<sub>2</sub> a zvýšenou vlhkosťou, pri teplote (35–37) °C po dobu 18–24 h
- Z čistej vyrastenej kultúry vykonajte Gramové farbenie, test na oxidázu ev. katalázu, mikroskopické vyšetrenie
- Gramnegatívne koky ev. diplokoky s pozitívnou oxidázou a katalázou identifikujte pomocou súpravy NEISSERIAtest (*N. elongáty* tvoria tyčky, kataláza negatívna)

**Poznámka:**

V prípade práce s materiálom, v ktorom sa môžu vyskytovať zmiešané kultúry (napr. z respirácií, pri použití neselektívneho média) odporúčame vyočkovať dobre izolovanú kolóniu z primárnej kultúry a vykonať jej opakovanú kultiváciu pred vlastnou identifikáciou pomocou NEISSERIAtestu.

Pre seketívnu izoláciu *Neisseria meningitidis* z krku je možné výhodne použiť diagnostický disk V+K DISK (vankomycín + kolistin), kat. č. MLT00087. V mieste difúzie antibiotík rastú iba *N. meningitidis*, *N. lactamica* a kvasinky. Ich odlíšenie

- kvasinky – mikroskopicky
- *N. lactamica* – pomocou ONPtestu, kat. č. MLT00038 – do 1 h ONPG dáva pozitívnu reakciu (žltá farba), ONPG negatívnej kultúry identifikovať pomocou NEISSERIAtestu
- *N. meningitidis* – (ONPG negatívny) – identifikovať pomocou NEISSERIAtestu s výsledkom do 4 h.



- Príprava doštičky NEISSERIAtest:**
- Otvorte alumíniový sáčok odstrihnutím tesne vedľa zvaru a vyberte doštičku.
  - Pomocou skalpela odrežte príslušný počet radov (striпов) doštičky, odpovedajúci počtu testovaných kmeňov (1 riadok, tj. 8 jamiek, na identifikáciu jedného kmeňa).
  - Vyrezané rady vyberte z doštičky, odstráňte ochrannú Al fóliu a rady umiestnite do pripraveného prázdneho rámička. V prípade, že so súpravou MIKROLATEST® pracujete prvý raz a prázdny rámiček nemáte k dispozícii, použite rámiček prvej doštičky. Nevyužitú stripy prvej doštičky potom uložte voľne v skladovacom sáčku.
  - Zaznamenajte čísla vyšetovaných kultúr na príslušné stripy.
  - Zbytok doštičky so sušidlom vložte do priloženého alumíniového sáčka na uloženie nezužitkovej doštičky a uložte do chladničky na ďalšie použitie; dbajte na to, aby doštička bola chránená pred vlhkosťou. Odporúčame doštičku po prvom použití spotrebovať do 4 týždňov.

**Poznámka:**

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

**Príprava inokula:**

- Suspenzné médium predhrejte na (35–37) °C (súčasne s doštičkami NEISSERIAtest).
- Z kultúry, vyrastenej na agarovej pôde, pripravte pomocou očkovacej tyčinky ev. vatového tampónu v suspenznom médiu suspenziu o hustote odpovedajúcej minimálne 3. stupňu McFarlandovej zákalovej stupnice, suspenziu dôkladne homogenizujte.
- Súčasne vykonajte zo suspenzie krížový rozter na agarovú pôdu kvôli kontrole čistoty, ev. ďalšiemu testovaniu kultúry.
- V prípade použitia fyziologického roztoku na ONPtest, pripravte vo fyziologickom roztoku suspenziu rovnakej hustoty ako na inokuláciu NEISSERIAtestu.

**Inokulácia:**

- NEISSERIAtest inokulujte čo najskôr – nie neskoršie ako 15–30 minút po príprave suspenzie
- Suspenziou pred použitím dôkladne zatrepte
- Inokulujte 0,1 ml suspenzie do všetkých jamiek príslušného riadka
- Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii susedných jamiek
- Naočkovaný NEISSERIAtest prekryte viečkom
- Do zvyšku suspenzie v suspenznom médiu, ev. do suspenzie vo fyziologickom roztoku, vložte vypálenou pinzetou prúžok na detekciu  $\beta$ -galaktozidázy (ONPtest).

**Poznámka:**

S každou sériou neznámych kmeňov a vždy pri použití novej šarže doštičiek NEISSERIAtest naočkujte súčasne kontrolné kmene na overenie farebného vyjadrenia testov.

**Inkubácia:**

- Doštičku NEISSERIAtest s naočkovanými kmeňmi zasunte do inkubačného PE vrecúška
- Otvorený koniec vrecúška zahnite pod doštičku, aby nedošlo k vysychaniu inokula
- Skúmavky s prúžkom ONPtestu ponechajte v stojančeku
- NEISSERIAtest i prúžok ONPtestu vo zvyšku suspenzie inkubujte v obyčajnej atmosfére pri (35–37) °C, po dobu 24 h, v prípade použitia dostatočne hustej suspenzie kmeňa je ev. možné urobiť predbežné hodnotenie po 4 h inkubácie (bez testov SPS, jamka A, SPS prečítajte až po 24 h inkubácie.)

**Hodnotenie:**

- Prečítajte testy GLU, MLT, FRU, SUC, GGT, TRB (jamky G–B) a ONP (prúžok ONPtestu) a výsledky zaznamenajte do protokolu na záznam výsledkov
- Do jamiek s testom SPS (jamka A) prikvapnite po jednej kvapke Lugolovho roztoku, prečítajte reakciu a zapíšte do protokolu na záznam výsledkov.

**Poznámka:**

- Pri hodnotení testov na utilizáciu cukrov (jamky G–D) vždy porovnávajte sfarbenie reakcií s negatívnou kontrolou v jamke H. Každú zmenu farby týchto cukrov ve srovnaniu s negatívnou kontrolou v jamke H hodnotiť ako pozitívnu reakciu. Na hodnotenie farebných reakcií ďalej slúži tabuľka „Interpretácia reakcií“, farebná porovnávací stupnica, poprípade je možné sa orientovať podľa farebných reakcií kontrolných kmeňov.

**Identifikácia:**

- Identifikáciu vykonajte pomocou „Diferenciačnej Tabuľky“
- Pri identifikácii posudzujte kultúru komplexne, t.j. vrátane morfológických znakov, údajov o pôvode izolátu, atď.
  - V prípade neúspešnej identifikácie opakujte NEISSERIAtest

**Likvidácia doštičky:**

- Po použití vložte naočkované riadky doštičky do nádoby na infekčný materiál a autoklávuajte alebo zničte spálením
- Prázdne papierové obaly dajte do zberu k recyklácii.

## Doporučenia pri práci s NEISSERIAtestom

Riadte sa postupom uvedeným v pracovnom návode; predovšetkým pri práci s kmeňmi *N. gonorrhoeae*, resp. *N. meningitidis*, je potreba venovať maximálnu pozornosť presnému postupu:

- Použite 24 h kultúru testovaného kmeňa; použitie staršej kultúry môže viesť k falošne negatívnym výsledkom
- Teplota na kultiváciu nemá prekročovať 37 °C
- Použitý materiál (suspenzné médium, doštičky NEISSERIAtest) je potrebné pred inkubáciou

- vytemperovať, najlepšie v termostate
- Je nutné dodržať predpísanú hustotu suspenzie – minimálne 3. stupeň McFarlandovej stupnice
- Pri príprave suspenzie a pri inokulácii doštičky nesmie dôjsť k zbytočným prestávkam v práci, materiál je potreba spracovať a uložiť do termostatu v čo najkratšom čase (do 15–30 minút)
- Nedodržanie pravidiel pri práci môže viesť k falošným výsledkom

**Ďalšie možné príčiny neúspechu pri identifikácii:**

- Zmiešaná alebo kontaminovaná kultúra
- Použitie malého objemu inokula
- Inokulum bolo roztreknuté i do susedného radu
- Môže sa jednať o atypický kmeň alebo zástupcu druhu, nezaradeného do diferenciačnej tabuľky

**Vlastnosti súpravy:**

- Súprava bola testovaná na súbore 112 kmeňov
- 98% bolo správne identifikované
- 2% nie boli odlišené

**Kontrola kvality testov:**

Kvalita chemikálií používaných na výrobu doštičiek NEISSERIAtest je overovaná štandardným testovacím postupom. Vyrobené série doštičiek sú taktiež kontrolované funkčnou skúškou pomocou kontrolných bakteriálnych kmeňov. Na prácu s doštičkami NEISSERIAtest na Vašom pracovisku odporúčujeme použitie kontrolných kmeňov, uvedených v tabuľke **Kontrolné kmene**. Taktiež pre rutinnú diagnostiku praxou odporúčujeme používať tieto štandardné testovacie kmene na overenie správnosti metodického postupu, priebehu testov a farebného vyjadrenia reakcií. Na kontrolu funkčnosti súpravy je nutné použiť vždy čerstvé izoláty kmeňov. **Pozor - tieto kmene slúži iba na kontrolu funkčnosti súpravy, nie na kontrolu správnosti, či úspešnosti identifikácie!**

## Kontrolné kmene

| Kmeň                       | CCM  | Jamka / skratka testu |          |          |          |          |          |          |          | Dg. prúžok ONPtest |
|----------------------------|------|-----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------------|
|                            |      | H<br>NEC              | G<br>GLU | F<br>MLT | E<br>FRU | D<br>SUC | C<br>GGT | B<br>TRB | A<br>SPS |                    |
| Neisseria subflava         | 3482 | –                     | +        | +        | +        | +        | +        | –        | +        | –                  |
| Neisseria lactamica        | 4392 | –                     | +        | +        | –        | –        | –        | –        | –        | +                  |
| Moraxella (B.) catarrhalis | 4391 | –                     | –        | –        | –        | –        | –        | +        | –        | –                  |

Vysvetlivky: + ..... pozitívna reakcia  
 – ..... negatívna reakcia  
 NEC ..... negatívna kontrola

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](mailto:ccm@sci.muni.cz)  
 Kmene sú dodávané v lyofilizovanom stave alebo na želatínových diskoch.

**Literatúra:**

Kuzemská, Pa a kol.: Standardní metoda laboratorní diagnostiky nálezů vyvolaných *Neisseria meningitidis*, Príl.č. 17/1986 k Acta hyg., epidemiol. microbiol.  
 Kuzemská, P. a kol.: Laboratorní průkaz gramnegativních koků a kokobacilů Mikrobiologické vyšetřovací metody, sv. 5, Avicenum, Praha 1987  
 Morse, S. A., and Knapp, J. S.: The genus *Neisseria*. In: The Prokaryotes, 2nd. ed. Edited by E. Ballows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder and K. H. Schleifer. Vol. 3. p. 2495–2529. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg 1991.

**Ochrana zdravia:**

Komponenty súpravy neobsahujú nebezpečné látky.

**Interpretácia reakcií**

| Jamka       | Test                   | Skratka testu | Reakcia                        |                                    |
|-------------|------------------------|---------------|--------------------------------|------------------------------------|
|             |                        |               | Pozitívna                      | Negatívna                          |
| H           | Negatívna kontrola     | NEC           | –                              | červená, oranžovočervená           |
| G           | Glukóza                | GLU           | žltá, bledooranžová            | červená, oranžovočervená           |
| F           | Maltóza                | MLT           | žltá, bledooranžová            | červená, oranžovočervená           |
| E           | Fruktóza               | FRU           | žltá, bledooranžová            | červená, oranžovočervená           |
| D           | Sacharóza              | SUC           | žltá, bledooranžová            | červená, oranžovočervená           |
| C           | λ-glutamyl transferáza | GGT           | žltá, bledožltá                | bezfarebná                         |
| B           | Tributyrín             | TRB           | žltá, žltoranžová              | červená, oranžovočervená, oranžová |
| A           | Syntéza polysacharidu  | SPS           | čierna, tmavomodrá, tmavohnedá | žltá, hnedožltá                    |
| Dg. proužek |                        |               |                                |                                    |
| OXItest     | cytochrómoxidáza       | OXI           | tmavomodrá, modrá              | šedá                               |
| ONPtest     | β-galaktózidáza        | ONP           | žltá, bledožltá                | bezfarebná, zákal bak. suspenzie   |

**Diferenciačná tabuľka**

| Jamka:                                      | NEISSERIAtest |     |     |     |     |     |     |     | Dodatkové testy |     |                      |
|---|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------|-----|----------------------|
|   | H             | G   | F   | E   | D   | C   | B   | A   | ONP             | DNA | Thayer-Martinov agar |
| Test:                                       | NEC           | GLU | MLT | FRU | SUC | GGT | TRB | SPS |                 |     |                      |
| <i>N. gonorrhoeae</i>                       | –             | +   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –               | –   | +                    |
| <i>N. meningitidis</i>                      | –             | +   | +   | –   | –   | +   | –   | –   | –               | –   | +                    |
| <i>N. lactamica</i>                         | –             | +   | +   | –   | –   | –   | –   | –   | +               | –   | +                    |
| <i>N. polysaccharea</i>                     | –             | +   | +   | –   | d   | –   | –   | +   | –               | –   | +                    |
| <i>N. sicca+</i><br><i>N. mucosa+</i>       | –             | +   | +   | +   | +   | d   | –   | +   | –               | –   | –                    |
| <i>N. subflava</i>                          | –             | +   | +   | d   | d   | d   | –   | d   | –               | –   | –                    |
| <i>N. flavescens</i>                        | –             | –   | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –               | –   | –                    |
| <i>N. cinerea++</i><br><i>N. elongata++</i> | –             | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –               | –   | –                    |
| <i>M. (B.) catarrhalis</i>                  | –             | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –   | –               | +   | –                    |

**Vysvetlivky:**

+ = 75–100 % pozitívnych reakcií  
 – = 0–25 % pozitívnych reakcií  
 d = 26–74 % pozitívnych reakcií  
 NEC = negatívna kontrola  
 DNA = DNÁza  
 TMA = selektívne médium, Thayer-Martinov agar

**Poznámky:**

+ *N. sicca* a *N. mucosa* nie je možné pomocou NEISSERIAtestu odlíšiť  
 ++ bunky *N. cinerea* sa vyskytujú vo forme zhrubnutých kokusov, v pároch alebo rozptýlených zhlukoch  
 bunky *N. elongata* sa vyskytujú vo forme krátkych a tenkých tyčiek, často usporiadaných ako diplobacily alebo v krátkych reťazkách

**POUŽITÉ SYMBOLY**


Katalógové číslo



In vitro diagnostikum



Výrobca



Čítajte návod k použitiu



Číslo šarže



Teplota skladovania



Dátum expirácie





Ном. номер: *MLT00011*

Для микробиологии

Набор НЕЙССЕРИЯтест предназначен для рутинной идентификации бактерий рода *Neisseria*, прежде всего *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* и *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. Набор содержит 3 пластмассовые 96-луночные микротитровальные пластинки размером 8x12,5 см, состоящие из 12 стрипов. В каждом стрипе 7 ячеек с высушенными питательными средами и субстратами для 7 ключевых биохимических тестов (глюкоза, мальтоза, фруктоза, сахароза,  $\gamma$ -глутамил-трансфераза, трибутирин, синтез полисахаридов) и 8-я ячейка содержит высушенную питательную среду и служит для постановки контроля. Идентификацию дополняют тесты на цитохромоксидазу и бета-галактозидазу, которые поставляются в форме полосок ОКСИтест и ОНПтест.

**Набор НЕЙССЕРИЯтест содержит:**

- 3 микротитровальные пластинки (каждая для идентификации 12 штаммов) с силикагелем
- Инструкция для пользователя с Идентификационной таблицей,
- Цветная шкала для НЕЙССЕРИЯтест
- 3 полиэтиленовых пакетика для инкубации
- Пакет для хранения частично использованной пластинки
- 36 бланков для регистрации результатов
- Крышка

### Инструкция к постановке НЕЙССЕРИЯтест

**Материалы, необходимые для работы (не входят в набор):**

- Суспензионную среду для НЕЙССЕРИЯтест, Ном. номер MLT00025 – 18 определений
- Инокуляционная пипетка Микро-Ла-Степпер, Ном. номер 50001707
- Прибор ДЕНСИЛАМЕТР II или пробирки с суспензией 3 степени мутности по шкале McFarland (0,3 мл 1% раствора  $BaCl_2 \cdot 2H_2O$  и 9,7 мл 1% раствора  $H_2SO_4$ )
- Суспензионная среда
- Скальпель
- Раствор Люголя
- Штатив для пробирок
- Чашки Петри с питательным агаром
- Термостат, оборудование для выращивания культур при повышенном содержании  $CO_2$
- Автоматические микропипетки объемом 0,1 мл, стерильные наконечники
- Микробиологические петли, горелка
- Дезинфицирующий раствор
- Маркировочные карандаши

**Дополнительно поставляемые материалы (не входят в набор):**

- ОНПтест-диагностические полоски для обнаружения  $\beta$ -галактозидазы, Ном. номер MLT00038 – 50 определений
- ОКСИтест-диагностические полоски для обнаружения цитохромоксидазы, Ном. номер MLT00039 – 50 определений
- Реактив для теста ОКСИДАЗА, Ном. номер MLT00022 – 250 определений
- V+K ДИСК, Ном. номер MLT00087 – 100 определений

**Пособия для идентификации (не входят в набор):**

- Книга кодов для НЕЙССЕРИЯтест - расположена по адресу [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com) (раздел Микробиология)
- Программа идентификации ErbaExpert

**Хранение:**

При температуре от +2 до +8 °С.

**Срок годности:**

1 год (срок годности указан на каждой упаковке).

**Предупреждение:**

- Набор предназначен только для квалифицированного использования в микробиологической лаборатории.

**Необходимо соблюдать правила обращения с инфицированным материалом!**

**Выделение культуры:**

Выделите чистую культуру, пользуясь общепринятыми в микробиологии методами на рекомендованной среде (шоколадный агар по Mueller-Hinton, Thayer-Martin агар).

- Чашки с агаром перед посевом нагрейте до (35–37) °С.
- Чашки после посева инкубируйте при повышенном содержании  $CO_2$  и в атмосфере повышенной влажности воздуха при температуре (35–37) °С в течение 18–24 ч.

- Из чистой культуры сделайте мазок с окраской по Граму, поставьте тесты на цитохромоксидазу, каталазу и проведите микроскопическое исследование мазка.
- Грамотрицательные кокки или диплококки с положительной реакцией на цитохромоксидазу или каталазу следует идентифицировать с помощью НЕЙССЕРИЯтест (исключение составляет *N. elongata*, представляющая собой каталазаотрицательную палочку).

**Проведение исследования:** Для селективного выделения *Neisseria meningitidis* из зева используют диагностические диски V+K (ванкомицин + колистин), каталожный номер MLT00087. В зоне диффузии антибиотика растут только *N. meningitidis*, *N. lactamica* и грибы. Их дифференциация:

- грибы – данными микроскопии
- *N. lactamica* – постановкой ОНПтеста, (каталожный номер MLT00038), который через 1 час дает положительную реакцию (желтый цвет).
- *N. meningitidis* – (ОНП отрицательные) – подтверждают с помощью НЕЙССЕРИЯтест при учете результата работы тестов через 4 часа

Перенос в раздел Учет результата.

**Примечание:** При работе с материалом, содержащим смешанные культуры (напр. отделяемое из верхних дыхательных путей), рекомендуется из хорошо изолированной колонии первичного посева сделать повторный посев на свежую среду.

**Подготовка стриппированных пластинок:**

- Откройте алюминиевую упаковку по сварному шву.
- Достаньте пластинку из алюминиевого пакета.
- Возьмите необходимое количество стрипов из пластинки (1 стрип, т.е. 8 тестов, на одну культуру).
- Удалите адгезивную пленку с индивидуальных стрипов, вставьте их в подготовленную рамку. В том случае, если Вы работаете с набором Микро-Ла-Тест® впервые, и у Вас нет свободной рамки, используйте рамку первой пластинки. Неиспользованные стрипы из первой пластинки поместите в пакет для хранения неиспользованных пластинок.
- Напишите номера штаммов на соответствующие стрипы.
- Остаток неиспользованных стрипов с силикагелем поместите в алюминиевый пакет для частично использованных пластинок и положите в холодильник для последующего использования; пластинку необходимо предохранять от влаги. Не рекомендуется хранить пластинку более 4 недель с момента ее вскрытия.

**Примечание:**

Рекомендуем помещать ряды стрипов в рамку так, чтобы между ними осталось свободное пространство для исключения ложноположительных реакций в лунках, находящихся рядом с лунками с резко положительной реакцией.

**Примечание:**

неравномерное распределение субстрата в лунке не влияет на функциональность теста.

**Приготовление бактериальной суспензии:**

- Суспензионную среду и стрипы НЕЙССЕРИЯтест нагрейте до (35–37) °С.
- Из культуры микроорганизмов на агаре приготовьте суспензию в суспензионной среде. Тщательно гомогенизируйте. Мутность суспензии должна соответствовать не менее 3 степени мутности по шкале McFarland. Слишком жидкая или густая суспензия может привести к ложным результатам.
- Параллельно сделайте посев культуры на агаровую среду для проверки чистоты культуры ее ростовых свойств и/или для постановки дополнительных тестов
- В случае использования физиологического раствора для постановки ОНПтеста, подготовьте суспензию аналогичной мутности.

**Инокуляция:**

- Суспензию бактерий тщательно встряхните
- Запишите номера исследуемых культур
- Инокуляцию НЕЙССЕРИЯтест произведите не позднее 15–30 мин после приготовления суспензии
- Инокулируйте по 0,1 мл суспензии в каждую лунку соответствующего вертикального ряда
- Исключите возможность заражения соседних лунок
- После инокуляции закройте тест крышкой
- В остаток суспензии микроорганизмов в суспензионной среде или в физиологическом растворе опустите полоску для обнаружения бета-галактозидазы (ОНПтест).

**Примечание:**

При использовании новой партии тест-систем параллельно инокулируйте контрольные штаммы для уточнения цветных реакций.

**Инкубация:**

- После инокуляции вложите пластинку в пакет из полиэтилена.
- Открытый конец загните под пластинку, чтобы инокулят не высохал при инкубации
- Инокулируйте пластинку и полоску ОНПтеста при температуре (35–37) °С в течение 24 ч. Инкубацию проводите в обычной атмосфере

**Учет результата:**

- Проверьте рост и чистоту культуры на контрольной чашке
- Отметьте тесты GLU, MLT, FRU, SUC, GGT, TRB, (ячейка G–B) и ONP (полоска ОНПтеста) и результаты запишите в бланки.
  - Результаты определения сахаров (лунки G-D) сравните с негативным контролем (лунка H).

Любое изменение цветовых реакций в этих лунках в сравнении с отрицательным контролем в лунке Н интерпретируют как положительную реакцию.

- Добавьте по 1 капле раствора Люголя в лунки с тестом SPS (горизонтальный ряд А)
- Результаты также запишите в бланки

**Примечания:**

- Для оценки цветных реакций предназначена таблица «Интерпретация реакций», Цветная шкала сравнения или цветные реакции контрольных штаммов.
- При использовании достаточно густой суспензии предварительную оценку можно сделать через 4–6 ч (без теста SPS - ячейка А, реакцию которой следует учитывать через 24 ч).

**Идентификация:**

- Идентификацию проводите с помощью «Идентификационной таблицы» или компьютерных программ «Система микробиологического мониторинга «Микроб 2» со встроенной «Идентификацией» и «Микроб-Автомат»
- При окончательной идентификации следует учитывать всю дополнительную информацию (микроскопию, характер колоний и т.д.)
- Если культуру не удается идентифицировать рекомендуется повторить НЕЙССЕРИЯтест

**Дезинфекция:**

- После употребления микротестсистемы обеззараживаются в дезинфицирующем растворе или автоклавируются
- Рамку с крышкой следует продезинфицировать
- Бумажную упаковку сдайте в макулатуру
- Соблюдайте точно инструкцию, особенно со штаммами *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*

**Рекомендации:**

- Для идентификации используйте только 24 часовые культуры, т.к. при использовании культур с более длительной инкубацией возможны ложноотрицательные реакции
- Температура инкубации не должна превышать 37 °С
- Перед посевом и инокуляцией необходимо прогреть среды и тестсистемы
- Мутность суспензии должна быть не менее 3 степени мутности по шкале McFarland
- Приготовление суспензии и инокуляцию пластинки необходимо выполнить в течение 15–30 мин
- Несоблюдение указанных рекомендаций может привести к ложным результатам

**Наиболее частые причины неудач при идентификации:**

- Смешанная культура
- Использование суспензий с недостаточной мутностью или в недостаточном объеме
- Перекрестная контаминация суспензий в расположенных рядом лунках
- Не точно соблюдена методика постановки теста
- Возможно выделение штамма с нетипичными свойствами или его данные не заложены в таблице

**Свойства:**

- Набор был протестирован на 112 штаммах
- 98% идентифицировано правильно
- 2% недифференцировано

Химический контроль качества реактивов, используемых при производстве НЕЙССЕРИЯтест, осуществляется стандартными методами. Производственные партии пластинок контролируются с помощью контрольных референтных бактериальных культур. Для работы с пластинками НЕЙССЕРИЯтест в лаборатории рекомендуем использовать следующие контрольные штаммы (показаны в таблице **Контрольные штаммы**). Для контроля функциональности набора необходимо всегда пользоваться свежими изолятами штаммов. **Данные штаммы служат для контроля функциональности набора, а не для контроля идентификации!**

### Контрольные штаммы

| Штамм No.                         | CCM  | ячейка/код теста |          |          |          |          |          |          |          | полоска ОНП |
|-----------------------------------|------|------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------|
|                                   |      | H<br>NEC         | G<br>GLU | F<br>MLT | E<br>FRU | D<br>SUC | C<br>GGT | B<br>TRB | A<br>SPS |             |
| <i>Neisseria subflava</i>         | 3482 | –                | +        | +        | +        | +        | +        | –        | +        | –           |
| <i>Neisseria lactamica</i>        | 4392 | –                | +        | +        | –        | –        | –        | –        | –        | +           |
| <i>Moraxella (B.) catarrhalis</i> | 4391 | –                | –        | –        | –        | –        | –        | +        | –        | –           |

**Штамм No:** *Neisseria subflava* ..... CCM 3482  
*Neisseria lactamica*..... CCM 4392  
*Moraxella (B.) catarrhalis*.. CCM 4391

**Пояснения:** + .....положительная реакция  
 – .....отрицательная реакция  
 NEC .....негативный контроль  
 CCM – Чешская коллекция микроорганизмов  
 ГИСК, Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича, г. Москва, телефон 8 (499) 241-31-19

**Предупреждение:** Для контроля функциональности набора необходимо всегда пользоваться свежими изолятами штаммов CCM. Данные штаммы служат для контроля функциональности набора, а не для

NEISSERIAtest

### Интерпретация реакций

| Ячейка   | Сокр.                  | Тест | РЕАКЦИЯ                               |  |
|----------|------------------------|------|---------------------------------------|--|
|          |                        |      | положительная                         | отрицательная                          |
| H        | нег. контроль          | NEC  | –                                     | красный, красно-оранж.                 |
| G        | глюкоза                | GLU  | желтый, желто-оранжевый               | красный, красно-оранж.                 |
| F        | мальтоза               | MLT  | желтый, желто-оранжевый               | красный, красно-оранж.                 |
| E        | фруктоза               | FRU  | желтый, желто-оранжевый               | красный, красно-оранж.                 |
| D        | сахароза               | SUC  | желтый, желто-оранжевый               | красный, красно-оранж.                 |
| C        | л-глутамил-трансфераза | GGT  | желтый, бледно-желтый                 | бесцветный                             |
| B        | трибутирин             | TRB  | желтый, желт. оранжевый               | красный, краснооранж., оранжевый       |
| A        | синтез полисахаридов   | SPS  | черный, темно-синий, темно-коричневый | желтый, коричнево-желт.                |
| Полоски  |                        |      |                                       |  |
| ОКСИтест | оксидаза               | OXI  | темно-синий, синий                    | серый                                  |
| ОНПтест  | β-галактозидаза        | ONP  | желтый, бледно-желтый                 | бесцветный, помутнение бакт. суспензии |

### Идентификационная таблица

| Ячейка                     | НЕЙССЕРИЯтест |     |     |     |     |     |     |     | Дополнительные тесты |     |     |
|----------------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------------------|-----|-----|
|                            | H             | G   | F   | E   | D   | C   | B   | A   | ONP                  | DNA | TMA |
| Тест:                      | NEC           | GLU | MLT | FRU | SUC | GGT | TRB | SPS |                      |     |     |
| <i>N. gonorrhoeae</i>      | –             | +   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –                    | –   | +   |
| <i>N. meningitidis</i>     | –             | +   | +   | –   | –   | +   | –   | –   | –                    | –   | +   |
| <i>N. lactamica</i>        | –             | +   | +   | –   | –   | –   | –   | –   | +                    | –   | +   |
| <i>N. polysaccharea</i>    | –             | +   | +   | –   | d   | –   | –   | +   | –                    | –   | +   |
| <i>N. sicca</i> +          | –             | +   | +   | +   | +   | d   | –   | +   | –                    | –   | –   |
| <i>N. mucosa</i> +         |               |     |     |     |     |     |     |     |                      |     |     |
| <i>N. subflava</i>         | –             | +   | +   | d   | d   | d   | –   | d   | –                    | –   | –   |
| <i>N. flavescens</i>       | –             | –   | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –                    | –   | –   |
| <i>N. cinerea</i> ++       | –             | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –                    | –   | –   |
| <i>N. elongata</i> ++      |               |     |     |     |     |     |     |     |                      |     |     |
| <i>M. (B.) catarrhalis</i> | –             | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –   | –                    | +   | –   |

**Пояснения:** + = 75–100 % положительных реакций  
 – = 0–25 % положительных реакций  
 d = 26–74 % положительных реакций  
 NEC = негативный контроль  
 DNA = ДНКазы  
 TMA = селективная среда, агар по Thayer-Martin

**Примечания:** + дифференциация *N. sicca* и *N. mucosa* с помощью НЕЙССЕРИЯтеста не возможна  
 ++ клетки *N. cinerea* встречаются в форме тонкостенных кокков, парных кокков или в рассеянных скоплениях  
 ++ клетки *N. elongata* встречаются в форме коротких и тонких палочек, часто упорядоченных как диплобацилы или в коротких цепочках

#### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ



Номер каталога



Ин витро диагностика



Производитель


 Перед использованием  
 Внимательно изучайте инструкцию


Номер партии



Температура хранения



Срок годности


 Национальный знак  
 соответствия для Украины


Cat. No.: MLT00011

**For microbiology**

The NEISSERIAtest is a miniaturized version of conventional procedures for the identification of *Neisseria* species. It is a ready-to-use microwell plate system designed for performance of 7 biochemical tests (acid production from glucose, maltose, fructose and sucrose; detection of  $\gamma$ -glutamyl transferase, hydrolysis of tributyrin and synthesis of polysaccharide). Used together with some supplementary tests (e.g. cytochrome oxidase,  $\beta$ -galactosidase) enable identification of 10 species of *Neisseria* and *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* accurately and easily.

- The kit NEISSERIAtest contains:**
- 3 microtitration plates (for the identification of 12 strains each) with desiccant
  - Instructions for use including the differentiation table,
  - Colour scale for NEISSERIAtest
  - 3 polyethylene bags for incubation
  - Storage bag (for storage of an open plate), 1 pc
  - 36 record sheets
  - Lid

**Storage, expiration:**

The NEISSERIAtest kit should be stored at (+2 to +8) °C. The expiration date is indicated on the package.

**Recommended procedure****Material required to perform a test (not included in the NEISSERIAtest kit):**

- Suspension medium for NEISSERIAtest (Cat. No. MLT00025 – 18 determinations)
- Petri dishes with cultivation medium suitable for neisseria
- Lugol iodine solution (Iodine powdered crystals 5 g; potassium iodine 10 g; distilled water 100 ml)
- Automatic micropipette (set to 0.1 ml) plus sterile tips
- Candle extinction jar or CO<sub>2</sub> incubator (4–10 % CO<sub>2</sub>) 37°C
- Inoculating loop, burner, marking pen
- Instrument DENSILAMETER II (Cat. No. INS00062)

**Material required to perform a supplementary test (not included in the NEISSERIAtest kit):**

- OXltest strips (Cat. No. MLT00039 – 50 determinations)
- Reagent for OXIDASE test (Cat. No. MLT00022 – 250 determinations)
- ONPtest strips (Cat. No. MLT00038 – 50 determinations)
- Sterile test tubes (100 x 15) mm with 1 ml of saline for ONPtest
- V+K DISK (Cat. No. MLT00087 - 100 determinations)

**For results evaluation (not included in the kit):**

- Code Book for NEISSERIAtest - located at [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com)
- The ErbaExpert Identification Program

**Caution:**

For professional use only

**Follow the principles for working with infectious material!**

**Isolation of cultures:**

Perform the isolation of culture by usual techniques on recommended media (e.g. Mueller-Hinton chocolate agar, Thayer-Martin agar).

Before preparing a suspension of the culture in suspension medium the following should be checked:

- Cell morphology and Gram stain reaction
- Catalase and cytochrome oxidase tests

The culture should comprise Gram negative diplococci with positive catalase and cytochrome oxidase tests.

**Note:**

For the selective isolation of *Neisseria meningitidis* from the throat diagnostic disc V+K DISK (vancomycin + colistin), Cat. No. MLT00087 can be used. In the zone of antibiotic diffusion grow only *N. meningitidis*, *N. lactamica* and yeasts. Their differentiation:

- yeasts – by microscopy
- *N. lactamica* – by ONPtest, Cat. No. MLT00038 – up to 1 h ONPG gives positive reaction (yellow colour), ONPG negative strains should be identified by NEISSERIAtest
- N. meningitidis* – (ONPG negative) – to be identified by NEISSERIAtest with the result up to 4 h

**Preparation of the NEISSERIAtest plate:**

- Open the aluminium sachet close to the weld and take out the plate.
- Cut off required number of triple strips from the plate.
- Remove the adhesive tape from individual strips and insert them into prepared frame. In case you work with MIKROLATEST® kit for the first time and an empty frame is not available, use the frame of the first plate. The unused strips of the first plate put into the storage bag freely.
- Record number of the strains or isolates to be examined on the appropriate strips.
- Put the rest of the plate with desiccant to the bag for storage of open plate, enclosed with the kit, and store it in a refrigerator for further use; keep in mind to protect it from humidity. It is recommended to spend the rest of plate till 4 weeks after first use.

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

**Preparation of inoculum:**

- Pre-warm the suspension medium and the NEISSERIAtest kit to (35–37) °C
- Use a pure, 24 hours old culture of Gram-negative, catalase and cytochrome oxidase positive diplococci.

The use of an older culture may lead to false reactions in some tests

- Open the ampoule with suspending medium by snapping off the top
- From the pure culture on Mueller-Hinton chocolate agar or Thayer-Martin agar make a suspension in the suspension medium having a turbidity equal to McFarland No. 3 turbidity scale
- Homogenize suspension thoroughly

Streak-out a sample from the inoculated suspension medium on a culture plate and incubate at (35–37) °C for 24 hours in a 4–10 % CO<sub>2</sub> atmosphere. This will provide a test to confirm purity of the suspension used to inoculate NEISSERIAtest and ONPtest.

**Inoculation:**

- Inoculate the strips as soon as possible; not later than 30 min after preparation of the suspension
- Homogenize the suspension thoroughly before use
- Inoculate 0.1 ml of the suspension into each well of the respective strip
- Do not dispense the inoculum too vigorously to prevent aerosol contamination of the wells of adjacent strip
- Cover the inoculated strips with lid
- Inoculation of the ONPtest: Insert ONPtest strip with the sterile forceps into tube with remaining inoculum or in inoculum made in saline

**Incubation:**

- Insert the frame with strips into a polythene bag
- Fold the open end of the bag under the plate to prevent desiccation during incubation
- Incubate NEISSERIAtest and ONPtest at (35–37) °C for 24 hours in aerobic conditions
- Preliminary reading of the results can be carried out already after 4 hours incubation
- The SPS test (well A) can be read only after 24 hours

**Reading:**

- Examine the purity of culture on control plate medium. Plates with no growth should be reincubated and examined after another 24 hours incubation.
- Record the results of all reactions (wells G–B) and the ONPtest (see note below).
- Compare the results of sugars (wells G–D) with negative control (well H). Any change of the colour reactions of these sugars in comparison to negative control in well H means positive reaction.
- Add one drop of the Lugol reagent into well A (test SPS) and record the result of the reaction.

**Note:**

- To evaluate the colour reactions of the tests follow the table "Interpretation of reactions" and/or the colour reaction of the control strains

**Identification:**

- For the identification refer to the "Differentiation table".
- If you have failed to identify the culture repeat the procedure as above.
- To complete the identification take into consideration all the results available, i. e. the source of culture, appearance and consistency of colonies, growth on selective media etc.

**The most frequent causes of identification failure:**

- Contaminated culture
- Using inoculum of low density or small volume of inoculum
- Inoculum has contaminated adjacent strip
- Failure to follow the recommended procedure
- There may be a species or strain whose data are not included in the "Differentiation table"

**Performance:**

- The kit was tested on a set of 112 strains.
- The identification of 98 % strains was correct.
- 2 % of the strains were not differentiated.

**Limitation:**

NEISSERIAtest should be used for the identification of *Neisseria* strains. Other bacteria do not necessarily give reliable results when using NEISSERIAtest.

**Disposal of used material:**

- After use, all ampoules, tips and strips must be autoclaved or incinerated
- Put paper packaging waste to recycling

**Quality control of NEISSERIAtest:** The quality control of the kits is performed systematically at various stages of their production. The batches are checked by tests on standard bacterial cultures. For those who wish to perform their own quality control tests, cultures mentioned in the table **Control strains** are recommended. **These strains are used to check the functionality of the kit, not to check the accuracy or success of the identification!**

*Neisseria subflava* CCM 3482;

*Neisseria lactamica* CCM 4392;

*Moraxella (Branhamella) catarrhalis* CCM 4391.

These strains are supplied in freeze-dried ampoules 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](mailto:ccm@sci.muni.cz)

## Control strains

| Strain                            | CCM  | Well. No. |          |          |          |          |          |          |          | Strip ONPtest |
|-----------------------------------|------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------------|
|                                   |      | H<br>NEC  | G<br>GLU | F<br>MLT | E<br>FRU | D<br>SUC | C<br>GGT | B<br>TRB | A<br>SPS |               |
| <i>Neisseria subflava</i>         | 3482 | –         | +        | +        | +        | +        | +        | –        | +        | –             |
| <i>Neisseria lactamica</i>        | 4392 | –         | +        | +        | –        | –        | –        | –        | –        | +             |
| <i>Moraxella (B.) catarrhalis</i> | 4391 | –         | –        | –        | –        | –        | –        | +        | –        | –             |

**Explanations:** +.....positive reactions;  
 –.....negative reactions;  
 NEC....negative control

**Caution:** It is necessary to use fresh isolates of the CCM strains each time when kit checked up for functionality. These strains are intended for check-up of the functionality of the kit, not for check-up of accuracy or effect of the identification.

**References:** Morse, S. A., and Knapp, J.S.: The genus *Neisseria*. In: The Prokaryotes. 2<sup>nd</sup>. ed. Edited by E. Ballows, H. G. Trüpper, M. Dworkin, W. Harder, and K. H. Schleifer. Vol. 3. p. 2495–2529. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg 1991.

**Health protection:** Components of the kit do not contain any dangerous substances.

### Interpretation of reaction

| Well No. | Test                     | Code | Reaction                       |                               |
|----------|--------------------------|------|--------------------------------|-------------------------------|
|          |                          |      | Positive                       | Negative                      |
| H        | Negative control         | NEC  | –                              | red to orange-red             |
| G        | Glucose                  | GLU  | yellow or pale orange          | red to orange-red             |
| F        | Maltose                  | MLT  | yellow or pale orange          | red to orange-red             |
| E        | Fructose                 | FRU  | yellow or pale orange          | red to orange-red             |
| D        | Sucrose                  | SUC  | yellow or pale orange          | red to orange-red             |
| C        | λ-glutamyl transferase   | GGT  | yellow or pale yellow          | colourless                    |
| B        | Tributyrin               | TRB  | yellow or yellow-orange        | red or orange-red             |
| A        | Polysaccharide synthesis | SPS  | black, dark blue or dark brown | yellow, brown or brown-yellow |
| Strip    |                          |      |                                |                               |
| OXItest  | cytochrome oxidase       | OXI  | dark blue or blue              | grey                          |
| ONPtest  | β-galactosidase          | ONP  | yellow or pale yellow          | colourless                    |

### Differentiation table

| NEISSERIAtest              |     |     |     |     |     |     |     |     |     | Supplementary tests |                                |   |
|----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------------------|--------------------------------|---|
| Well No.:                  | H   | G   | F   | E   | D   | C   | B   | A   |     |                     | Growth on Thayer-Martin medium |   |
| Test:                      | NEC | GLU | MLT | FRU | SUC | GGT | TRB | SPS | ONP | DNA                 |                                |   |
| <i>N. gonorrhoeae</i>      | –   | +   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –                   | –                              | + |
| <i>N. meningitidis</i>     | –   | +   | +   | –   | –   | +   | –   | –   | –   | –                   | –                              | + |
| <i>N. lactamica</i>        | –   | +   | +   | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –                   | –                              | + |
| <i>N. polysaccharea</i>    | –   | +   | +   | –   | d   | –   | –   | +   | –   | –                   | –                              | + |
| <i>N. sicca</i> +          | –   | +   | +   | +   | +   | d   | –   | +   | –   | –                   | –                              | – |
| <i>N. mucosa</i> +         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |                     |                                |   |
| <i>N. subflava</i>         | –   | +   | +   | d   | d   | d   | –   | d   | –   | –                   | –                              | – |
| <i>N. flavescens</i>       | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –   | –                   | –                              | – |
| <i>N. cinerea</i> ++       | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –                   | –                              | – |
| <i>N. elongata</i> ++      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |                     |                                |   |
| <i>M. (B.) catarrhalis</i> | –   | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –   | –   | +                   | –                              | – |

**Explanations:** + = 75–100 % of positive reactions  
 – = 0–25 % of positive reactions  
 d = 26–74 % of positive reactions  
 NEC = negative control  
 DNA = deoxyribonuclease

**Notes:** + *N. sicca* and *N. mucosa* are not differentiated by NEISSERIAtest  
 ++ *N. cinerea* cells occur as plump cocci arranged in pairs or in scattered clusters  
*N. elongata* cells occur as short and slender rods often arranged as diplobacilli or in short chains

#### USED SYMBOLS



Catalogue number



In vitro diagnostics



Manufacturer



See instruction for use



Lot number



Storage temperature



Expiry date





Nr kat.: MLT00011

**Do celów mikrobiologicznych**

Zestaw NEISSERIAtest przeznaczony jest do rutynowej identyfikacji bakterii z rodziny *Neisseriaceae*, przede wszystkim *N. gonorrhoeae* i *N. meningitidis* oraz *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. Zestaw pozwala na identyfikację 36 szczepów bakteryjnych, każdy przy pomocy 7 testów biochemicznych (glukoza, fruktoza, sacharoza,  $\gamma$ -glutamyl-transferaza, trybutyryna, synteza polisacharydów). Identyfikacja jest uzupełniona testami do wykrywania oksydazy cytochromowej oraz  $\beta$ -galaktozydazy, dostarczonymi w postaci pasków diagnostycznych OXItest i ONPtest. Zastosowanie dzielonych płytek pozwala na wykorzystywanie zawsze tylko potrzebnej części płytki, która odpowiada liczbie testowanych szczepów.

**Zestaw NEISSERIAtest zawiera:**

- 3 panele identyfikacyjne (każdy do identyfikacji 12 szczepów) z wysuszaczem
- 3 PE torebki do inkubacji
- Torebkę do przechowywania przeznaczoną do ułożenia niezużytej reszty płytki, 1szt.
- Instrukcję obsługi wraz z tabelą różnicującą,
- Porównawczą skalę barw do NEISSERIAtest
- 36 formularzy do wpisywania wyników
- Pokrywę

**Przechowywanie, termin ważności:**

Zestaw NEISSERIAtest należy przechowywać w temperaturze (+2 do +8°C). Termin ważności podany jest na każdym opakowaniu.

**Zalecany sposób postępowania dla NEISSERIAtest****Materiały potrzebne do pracy z zestawem NEISSERIAtest, które nie wchodzi w skład zestawu:**

- Nośnik zawiesziny do NEISSERIAtest, nr kat. MLT00025 – 18 oznaczeń/op.
- Pipeta inokulacyjna Mikrolastepper, nr kat. 50001707
- Urządzenie DENSILAMETER II, nr kat. INS00062
- Nośnik zawiesziny
- Skalpel
- Roztwór Lugola
- Statyw do probówek
- Szalki Petriego zawierające agar Mueller-Hinton chocolate
- Ciepłarka, wyposażona do hodowli w atmosferze wzbogaconej CO<sub>2</sub> (4-10%)
- Mikropipeta automatyczna 0,1 ml, końcówki sterylne
- Ezy
- Pisak na tworzywo sztuczne
- Środek dezynfekcyjny

**Materiały potrzebne do pracy z testami uzupełniającymi, które nie wchodzi w skład zestawu:**

- ONPtest, nr kat. MLT00038 – 50 oznaczeń/op.
- OXItest, nr kat. MLT00039 – 50 oznaczeń/op.
- Odczynnik do próby oksydazowej, nr kat. MLT00022 – 250 oznaczeń/op
- V+K DISK, nr kat.: MLT00087 – 100 oznaczeń/op

**Niezbędne pomoce identyfikacyjne, które nie wchodzi w skład zestawu:**

- Książka kodów do NEISSERIAtest - znajduje się na stronie [www.eralachema.com](http://www.eralachema.com) (sekcja poświęcona mikrobiologii)
- Program identyfikacyjny ErbaExpert

**Uwaga:**

- Zestaw przeznaczony jest do profesjonalnego zastosowania

**Przestrzegaj zasad pracy z materiałem zakaźnym!**

**Izolowanie kultury:**

- Izolowanie kultury powinno zostać przeprowadzone na agarze Mueller-Hinton chocolate, lub na agarze Thayer-Martin, lub na innych podłożach zalecanych do hodowli bakterii z rodziny *Neisseriaceae*.
- Z czystej kultury zrobić barwienie Grama, test na oksydazę ew. na katalazę, badanie mikroskopowe
- Gram-ujemne diploziarenkowce z dodatnią oksydazą i katalazą identyfikować przy pomocy zestawu NEISSERIAtest

**Uwaga:**

Do selektywnej izolacji *Neisseria meningitidis* z gardła można z powodzeniem zastosować krążek diagnostyczny V+K DISK (vankomycyna + kolistyna), nr kat. MLT00087. W miejscu dyfuzji antybiotyków rosną tylko *N. meningitidis*, *N. lactamica* i drożdże. Ich odróżnienie:  
– drożdże – badanie mikroskopowe

- *N. lactamica* – przy pomocy ONPtest, nr kat. MLT00038 – do 1 godz. ONPG daje reakcję dodatnią (kolor żółty), ONPG ujemne kultury identyfikować przy pomocy NEISSERIAtest
- *N. meningitidis* – (ONPG ujemny) – identyfikować przy pomocy NEISSERIAtest z wynikiem do 4 godzin.

## **Przygotowanie panelu zestawu NEISSERIAtest:**

- Otworzyć ALU torebkę poprzez odcięcie brzegu torebki obok miejsca spawu oraz wyjąć płytkę
- Przy pomocy skalpela należy odciąć odpowiednią ilość pasków płytki, zgodnie z ilością badanych szczepów (1 rząd, tj. 8 studzienek 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 odpowiednie paski
- Resztę nieużytej płytki z wysuszaczem 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 zużyć płytkę do 4 tygodni od pierwszego zastosowania

## **Uwaga:**

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

## **Przygotowanie inokulum:**

- Nośnik zawiesiny oraz NEISSERIAtest podgrzać do temp. 35–37°C
- Zastosować czystą, 24godz. kulturę Gram-ujemnych, katalazo oraz oksydazo dodatnich diploziarenkowców
- Zastosowanie starszej kultury może spowodować fałszywą reakcję niektórych testów
- Odtworzyć fiolkę z nośnikiem zawiesiny odłamując jej górną część
- Z czystej kultury wyrosniętej na agarze Mueller-Hinton chocolate lub Thayer-Martin przygotować zawiesinę - z pomocą nośnika zawiesiny – o gęstości odpowiadającej 3 stopniowi w skali McFarlanda
- Zawiesinę dokładnie zhomogenizować
- Jednocześnie z zawiesiny przeprowadzić wysiew krzyżowy na pożywcze agarowej, które następnie należy inkubować w temp. 35–37°C w atmosferze 4–10% CO<sub>2</sub> celem potwierdzenia czystości zawiesiny zastosowanej do inokulacji NEISSERIAtest oraz ONPtest

## **Inokulacja:**

- Inokulację NEISSERIAtest przeprowadzić możliwie najwcześniej – najpóźniej do 30 minut po przygotowaniu zawiesiny
- Zawiesinę przed zastosowaniem należy dokładnie wstrząsnąć
- Inokulować 0,1 ml zawiesiny do wszystkich wgłębień stosowanego paska
- Zadbaj o to, aby nie doszło do kontaminacji sąsiednich studzienek
- Zainokulowany NEISSERIAtest zamknąć poprzez nałożenie pokrywy
- Do reszty zawiesiny w nośniku zawiesiny, ew. do zawiesiny w roztworze soli fizjologicznej, włożyć jałową pęsetą pasek do wykrywania β-galaktozydazy (ONPtest).

## **Inkubacja:**

- Płytkę NEISSERIAtest włożyć do polietylenowych woreczków do inkubacji.
- Otwarty koniec woreczka założyć pod płytkę, żeby zapobiec wysychaniu inokulum
- NEISSERIAtest i pasek ONPtest w reszcie zawiesiny inkubować w tlenowej atmosferze w temperaturze (35–37)°C przez okres 24 godzin, wstępną ocenę można przeprowadzić po 4 godzinach inkubacji (bez testu SPS, wgłębienie A; SPS należy odczytać po 24 godzinach inkubacji)

## **Odczyt:**

- Zbadać czystość kultury na nośniku kontrolnej płytki, płytki bez wzrostu należy reinkubować oraz zbadać po kolejnych 24 godzinach inkubacji.
- Odczytać testy w studzienkach G – B oraz ONPtest, wyniki zapisać w arkuszu do notowania wyników
- Porównać wyniki cukrów w studzienkach G-D z kontrolą ujemną (studzienka H)
- Każdą zmianę barw ww. cukrów w porównaniu z ujemną kontrolą w studzience H należy ocenić jako reakcję dodatnią.
- Do studzienki z testem SPS (studzienka A) dodatkowo wkropić roztwór Lugola – 1 kroplę, odczytać reakcję i zapisać w arkuszu do notowania wyników

## **Uwaga:**

Do oceny reakcji barwnych służy tabela „Interpretacja reakcji” oraz / lub reakcje barwne szczepów kontrolnych.

## **Identyfikacja:**

- Identyfikację przeprowadzić przy pomocy „Tabeli różnicującej”
- Podczas identyfikacji kulturę należy oceniać kompleksowo, uwzględniając właściwości morfologiczne, dane o pochodzeniu izolatu itp.
- W razie niepowodzenia w identyfikacji powtórzyć NEISSERIAtest.

## **Usuwanie zużytych materiałów:**

- Zużyte materiały należy autoklawować lub spalić.
- Ramki z pokrywą do ponownego użycia należy zdezynfekować lub sterylizować
- Puste opakowanie papierowe oddać do recyklingu odpadów.

## **Najczęściej spotykane przyczyny niepowodzenia identyfikacji:**

- Wymieszana lub kontaminowana kultura
- Zastosowano inokulum o niskiej gęstości lub małą ilość inokulum

- Podczas inokulacji doszło do kontaminacji sąsiadujących studzienek
- Nieprzestrzeganie zalecanej procedury
- Gatunki lub szczepy nie zostały zawarte w „Tabeli różnicującej”

**Właściwości zestawu:**

Zestaw został przetestowany z pomocą 112 szczepów.  
98% zidentyfikowano prawidłowo  
2% nie zróżnicowano

**Kontrola jakości testów:**

Jakość chemikaliów stosowanych do produkcji płytek NEISSERIAtest sprawdzana jest przy użyciu standardowego sposobu testowania. Wyprodukowane partie płytek sprawdzane są także za pomocą standardowych referencyjnych kultur bakteryjnych. Do pracy z płytkami NEISSERIAtest w Państwie laboratorium zalecamy zastosowanie szczepów kontrolnych wymienionych w tabeli **Szczepy kontrolne**. Także w celach rutynowej diagnostyki zalecamy zastosowanie tych standardowych szczepów kontrolnych do sprawdzenia prawidłowości sposobu postępowania, przebiegu testów i wyrażenia reakcji barwnych. Użycie szczepów kontrolnych zalecane jest w przypadku każdej serii nieznanymi szczepów, w przypadku każdej nowej serii zestawu oraz zgodnie z systemem walidacji laboratorium. Do kontroli funkcyjności zestawu niezbędne są świeże izolaty szczepów kontrolnych. **Uwaga – szczepy te służą wyłącznie do kontroli funkcyjności zestawu, nie służą do kontroli prawidłowości lub powodzenia identyfikacji!**

*Neisseria subflava* CCM 3482

*Neisseria lactamica* CCM 4392

*Moraxella (Branhamella) catarrhalis* CCM 4391

Szczepy te dostarcza 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](mailto:ccm@sci.muni.cz)

## Szczepy kontrolne

| Szczep                           | CCM  | Studzienka / Skrót testu |          |          |          |          |          |          |          | Dg. pasek ONPtest |
|----------------------------------|------|--------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------------|
|                                  |      | H<br>NEC                 | G<br>GLU | F<br>MLT | E<br>FRU | D<br>SUC | C<br>GGT | B<br>TRB | A<br>SPS |                   |
| <i>Neisseria subflava</i>        | 3482 | –                        | +        | +        | +        | +        | +        | –        | +        | –                 |
| <i>Neisseria lactamica</i>       | 4392 | –                        | +        | +        | –        | –        | –        | –        | –        | +                 |
| <i>Moraxella (B) catarrhalis</i> | 4391 | –                        | –        | –        | –        | –        | –        | +        | –        | –                 |

**Objaśnienia:** +.....reakcja dodatnia;  
–.....reakcja ujemna;  
NEC...kontrola ujemna

**Literatura:**

Kuzemenská, P. a kol.: Standardní metoda laboratorní diagnostiky nákaz vyvolaných *Neisseria meningitidis*, Příl. č. 17/1986 k Acta hyg., epidemiol. microbiol.

Kuzemenská, P. a kol.: Laboratorní průkaz gramnegativních koků a kokobacilů  
Mikrobiologické vyšetřovací metody, sv. 5, Avicenum, Praha 1987

Morse, S. A., and Knapp, J.S.: The genus *Neisseria*. In: The Prokaryotes. 2nd. ed. Edited by E. Ballows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K. H. Schleifer. Vol. 3. p. 2495–2529. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg 1991.

**Ochrona zdrowia:**

Składniki zestawu nie zawierają substancji niebezpiecznych.

**Interpretacja reakcji**

| Studzienka | Test                    | Skrót | Reakcja                                   |                               |
|------------|-------------------------|-------|---|-------------------------------|
|            |                         |       | Dodatnia                                  | Ujemna                        |
| H          | Kontrola ujemna         | NEC   | –   | czerwona, oranżowo czerwona   |
| G          | Glukoza                 | GLU   | żółta, blado oranżowa                     | czerwona, oranżowo czerwona   |
| F          | Maltoza                 | MLT   | żółta, blado oranżowa                     | czerwona, oranżowo czerwona   |
| E          | Fruktoza                | FRU   | żółta, blado oranżowa                     | czerwona, oranżowo czerwona   |
| D          | Sacharoza               | SUC   | żółta, blado oranżowa                     | czerwona, oranżowo czerwona   |
| C          | γ-glutamyl- transferaza | GGT   | żółta, blado żółta                        | bezbarwna                     |
| B          | Trybutyryna             | TRB   | żółta, blado oranżowa                     | czerwona, oranżowo-czerwona   |
| A          | Synteza polisacharydu   | SPS   | czarna ciemnie niebieska, ciemnie brązowa | żółta, brązowa, brązowo żółta |
| Dg. pasek  |                         |       |   |                               |
| OXItest    | Oksydaza cytochromowa   | OXI   | ciem. niebieska, niebieska                | szara                         |
| ONPtest    | β-galaktozydaza         | ONP   | żółta, blado żółta                        | bezbarwna                     |

**Tabela różnicująca**

| NEISSERIAtest                               |     |     |     |     |     |     |     |     | Testy dodatkowe |     |                     |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------|-----|---------------------|
| Studzienka:                                 | H   | G   | F   | E   | D   | C   | B   | A   |                 |     | Agar Thayer-Martina |
| Test:                                       | NEC | GLU | MLT | FRU | SUC | GGT | TRB | SPS | ONP             | DNA |                     |
| <i>N. gonorrhoeae</i>                       | –   | +   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –               | –   | +                   |
| <i>N. meningitidis</i>                      | –   | +   | +   | –   | –   | +   | –   | –   | –               | –   | +                   |
| <i>N. lactamica</i>                         | –   | +   | +   | –   | –   | –   | –   | –   | +               | –   | +                   |
| <i>N. polysaccharea</i>                     | –   | +   | +   | –   | d   | –   | –   | +   | –               | –   | +                   |
| <i>N. sicca+</i><br><i>N. mucosa+</i>       | –   | +   | +   | +   | +   | d   | –   | +   | –               | –   | –                   |
| <i>N. subflava</i>                          | –   | +   | +   | d   | d   | d   | –   | d   | –               | –   | –                   |
| <i>N. flavescens</i>                        | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –               | –   | –                   |
| <i>N. cinerea++</i><br><i>N. elongata++</i> | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –   | –               | –   | –                   |
| <i>M. (B.) catarrhalis</i>                  | –   | –   | –   | –   | –   | –   | +   | –   | –               | +   | –                   |

**Objaśnienia:** + = 75–100 % reakcji dodatnich  
 – = 0–25 % reakcji dodatnich  
 d = 26–74 % reakcji dodatnich  
 NEC = kontrola ujemna  
 DNA = deoksyrybonukleaza

**Uwagi:** + *N. sicca* i *N. mucosa* nie są różnicowane przez test NEISSERIAtest  
 ++ komórki *N. cinerea* występują w formie kolonii grubych ziarenkowców, w parach albo w krótkich łańcuchach  
*N. elongata* występują w formie krótkich oraz smukłych pałeczek, często zgrupowanych w krótkich łańcuchach lub w postaci dwoinek.

**UŻYTE SYMBOLE**


Numer Katalogowy



Urządzenie Diagnostyczne in Vitro



Producent



Patrz: Instrukcja Użycia



Numer Partii



Temperatury Graniczne



Termin Ważności

