



STREPTOtest 16



Kat. č.: MLT00014

Pro mikrobiologii

Souprava STREPTOtest 16 je určena pro rutinní identifikaci streptokoků, především druhů, vyskytujících se v humánním klinickém materiálu. Souprava umožňuje provést identifikaci šedesáti kmenů, pomocí šestnácti biochemických testů. Testy jsou umístěny v jamkách mikrotitrační destičky, vždy dvě řady po osmi jamkách.

Identifikace je doplněna testy, dodávanými ve formě detekčních proužků: PYRAtest pro detekci aktivity pyrrolidonylarylamidázy (PYRáza, test PYR), a VPtest pro detekci tvorby acetoinu.

Souprava STREPTOtest 16 obsahuje:

- 10 mikrotitračních destiček (každá pro identifikaci 6 kmenů) se sušidlem
- Návod na použití s diferenciací tabulkou
- Barevná škála pro soupravu STREPTOtest 16
- 10 PE sáčků pro inkubaci
- Skladovací sáček (na uložení nespotebované destičky), 1 ks
- 60 formulářů pro záznam výsledků
- Víčko

Skladování, expirace:

STREPTOtest 16 je třeba skladovat při teplotě (+2 až +8)°C. Expirace je vyznačena na každém balení.

Doporučený pracovní postup pro STREPTOtest 16

Potřeby pro práci se soupravou STREPTOtest 16,

kteřé nejsou součástí soupravy:

- Suspenzní médium pro STREPTOtest 16 (kat. č. MLT00026 – 20 stanovení)
- Parafinový olej sterilizovaný (kat. č. MLT00042 – 370 stanovení)
- Činidlo pro test HIPURÁT (kat. č. MLT00019 – 400 stanovení)
- Činidlo pro test FOSFATÁZA (kat. č. MLT00018 – 250 stanovení)
- Petriho misky s krevním agarem
- Zkumavky (100x15) mm se 3 ml sterilního fyziologického roztoku
- Přístroj DENSILAMETER II (kat. č. INS00062)
- Stojánek na zkumavky
- Krokovací mikropipeta 0,1 ml, sterilní špičky
- Termostat (35–37)°C
- Běžné laboratorní mikrobiologické vybavení (kličky, popisovače, kahan)

Pro práci s doplňkovými testy,

kteřé nejsou součástí soupravy:

- VPtest (kat. č. MLT00041 – 50 stanovení)
- Činidlo pro test ACETOIN (kat. č. MLT00016)
- PYRAtest (kat. č. MLT00040 – 50 stanovení)
- Činidlo pro test PYR (kat. č. MLT00023)

Identifikační pomůcky,

kteřé nejsou součástí soupravy:

- Kódová kniha pro soupravu STREPTOtest 16 - umístěna na www.erbalachema.com (sekce Mikrobiologie)
- Identifikační program ErbaExpert

Poznámka:

V případě vyhodnocování identifikace s pomocí Kódové knihy je pro tvorbu číselného kódu - profilu nezbytné znát výsledky testu VPtest.

Upozornění:

- Souprava je určena pouze k profesionálnímu použití

Dodržujte zásady pro práci s infekčním materiálem!

Izolace kultur:

- Izolaci kultur proveďte konvenční bakteriologickou technikou na neselektivním krevním agaru (Columbia agar, krevní agar č. 4).
- Posuďte morfologii čisté kultury, hemolytickou aktivitu na krevním agaru, proveďte test na detekci aktivity pyrrolidonylarylamidázy (test PYR, detekční proužek PYRAtest), případně proveďte testy na přítomnost skupinového antigenu (A, B, C, D, F, G), a výsledky zaznamenejte do formuláře pro záznam výsledků.

Poznámky:

- Viridující streptokoky a pneumokoky inkubujte v atmosféře s vyšším obsahem CO₂ (5% CO₂).
- Pro identifikaci kmenů, příslušejících do rodu *Enterococcus*, je určena souprava MIKRO-LA-TEST® EN-COCCUStest.
- Pro skupinu β-hemolytických streptokoků (streptokoky s velkými koloniemi) je pro identifikaci primární informace o přítomnosti skupinového antigenu, pro pneumokoky citlivost k optochinu a rozpustnost ve žluči.

Příprava inokula:

- Z čisté 24 h kultury připravte ve fyziologickém roztoku suspenzi. Suspenzi dobře homogenizujte.
- Zákal suspenze musí odpovídat 3. stupni McFarlandovy zákalové stupnice. Slabší nebo hustší suspenze může vést k falešným reakcím.

Poznámka: Pro dosažení požadované hustoty suspenze doporučujeme použít pro přípravu suspenze odběrové tampóny.

Ověření čistoty inokula:

V případě, že chcete ověřit čistotu inokula, proveďte stejnou klíčovou jakou jste připravili suspenzi křížový roztěr. Inkubujte při 37°C. Čistotu kultury posuzujte po 24 hod.

**Příprava destičky
STREPTOtest 16:**

- Otevřete aluminiový sáček odstříhnutím těsně vedle sváru a vyjměte destičku.
- Pomocí skalpelu odřízněte příslušný počet řad (stripů) destičky, odpovídající počtu testovaných kmenů (2 řady, tj. 2x8 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, řady umístěte do připraveného prázdného rámečku.
- Zaznamenejte čísla vyšetřovaných kultur na příslušné stripy.
- Zbytek nepoužité destičky se sušidlem vložte do přiloženého Alu sáčku na uložení nezužitkové 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.

Inokulace:

- Bakteriální suspenzi před použitím důkladně protřepejte.
- Inokulujte 0,1 ml suspenze do prvních 8-mi jamek s testy (sloupce H-A prvního řádku, tj. testy HIP až URE).
- Odpipetujte 1 ml suspenze k obsahu jedné ampulky suspenzního média pro STREPTOtest 16 (obsah 1 ml).
- Zředěnou suspenzi důkladně protřepejte.
- Inokulujte 0,1 ml zředěné suspenze do zbývajících osmi jamek (sloupce H-A druhého řádku, testy MAN až RIB).
- Při inokulaci dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci sousedních jamek.
- K jamkám sloupce B a A prvního řádku (testy ARG a URE) přidejte po inokulaci 2 kapky sterilního parafinového oleje.
- Do zkumavky se zbytkem suspenze ve fyziologickém roztoku (1 ml suspenze) vložte proužek VPtestu (takovým způsobem, aby obě zóny proužku byly do suspenze ponořeny), a zkumavku zazátkujte.

Poznámka: Víčko destičky je potisknuto zkratkami testů a symboly:

- (zakapat parafinovým olejem) a ◊ (přidat činidlo). V případě, že víčko v průběhu práce používáte na přikrytí destičky, před použitím jeho vnitřní stranu oťete ethanolem.

Poznámka:

- S každou sérií neznámých kmenů a při použití nové šarže destiček STREPTOtest 16 naočkejte současně kontrolní kmene pro ověření barevného vyjádření pozitivních a negativních reakcí.

Inkubace:

- Vložte rámeček s naočkovanými řadami do inkubačního PE sáčku.
- Otevřený konec sáčku zahněte pod destičku, aby nedošlo k vysychání inokula.
- STREPTOtest 16 i zkumavky s VPtestem vložte do termostatu, nastaveného na teplotu (35–37)°C; VPtest inkubujte 2 h, destičky STREPTOtestu 16 h.

Hodnocení:

- Po 2 hodinách inkubace zhodnoťte reakci ve zkumavce s VPtestem; přidejte do zkumavky po 3 kapkách činidla pro VPT I a činidla pro VPT II, obsah zkumavky řádně protřepejte a inkubujte dalších 30 minut při (35–37)°C. Po uplynutí této doby odečtěte VP reakci a výsledek zapište do formuláře pro záznam výsledků.
- Po 24 h inkubace zhodnoťte reakce na destičce STREPTOtestu 16;
 - Zkontrolujte čistotu kultury na Petriho misce s kontrolním křížovým roztěrem.
 - Na destičce STREPTOtestu 16 zakapejte činidla jamky:
 - 1. řada, jamka H (test hippurát) – 2 kapky činidla pro HIP
 - 1. řada, jamka G (test fosfatáza) – 1 kapka činidla pro PHS.
 - Destičku nechejte inkubovat (5–10) minut při teplotě laboratoře pro vývoj barevné reakce testu HIP.
 - Po uplynutí této doby odečtěte všechny testy a výsledek zapište, pomocí symbolů + a – pro pozitivní a negativní reakce, do formuláře pro záznam výsledků.

Poznámka:

- Pro hodnocení barevných reakcí použijte Barevnou srovnávací stupnici pro soupravu STREPTOtest 16, tabulku „Interpretace reakcí“ nebo se orientujte podle barevných reakcí kontrolních kmenů.
- Testy LAP, GLR a aGA doporučujeme hodnotit na bílé podložce.
- Test HIP zhodnoťte do 10 minut po zakapání činidlem; po uplynutí této doby se mohou objevit falešně pozitivní reakce.

Identifikace:

- Identifikaci proveďte pomocí Kódové knihy pro soupravu STREPTOtest 16, ev. na počítači pomocí identifikačního programu ErbaExpert.
- Při identifikaci posuzujte kulturu komplexně, vezměte v úvahu příslušnost k serologické skupině, hemolýzu, charakter kolonií, mikroskopii, původ izolátu, ev. další znaky.
- V případě neúspěšné identifikace opakujte STREPTOtest 16 a ev. identifikaci doplňte o další testy, případně zašlete izolát k identifikaci do NRL pro streptokoky a enterokoky SZÚ.

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.
- Testy argininu a ureázy nebyly převrstveny parafinovým olejem.
- Při hodnocení bylo činidlo vkápnuto do sousední řady.
- Nedodržení 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 60 klinicky významných kmenů. Více než 90% bylo správně identifikováno.

Kontrola kvality testů:

Kvalita chemikálií používaných pro výrobu destiček STREPTOtest 16 je ověřována standardním testovacím postupem. Vyrobené série destiček jsou rovněž kontrolovány funkční zkouškou pomocí kontrolních bakteriálních kmenů. Pro práci s destičkami STREPTOtest 16 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!**

CCM No.	Řádek 1								Řádek 2							
	H HIP	G PHS	F LAP	E GLR	D aGA	C ESL	B ARG	A URE	H MAN	G SOR	F TRE	E LAC	D RAF	C INU	B MLB	A RIB
4043	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
4617	+	-	+	+	-	+	s	-	+	+	+	+	-	s	-	s
1911	+	-	-	-	+	s	-	-	+	-	-	-	+	-	s	s

Vysvětlivky:

+ = pozitivní reakce - = negativní reakce s = slabě pozitivní reakce

- *Streptococcus constellatus* subsp. *constellatus* CCM 4043
- *Streptococcus uberis* CCM 4617
- *Aerococcus viridans* CCM 1911 (ATCC 29503)

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.

Poznámka:

pro kontrolu pozitivní reakce testu URE je možno použít kmen *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum* CCM 4296

Ochrana zdraví:

Komponenty soupravy nejsou klasifikovány jako nebezpečné.

INTERPRETACE REAKCÍ

Sloupec	Test	Zkratka testu	Reakce	
			pozitivní	negativní
Řádek 1				
H	Hippurát	HIP	modrá	bezbarvá, slabě namodralá
G	Fosfatáza	PHS	červenofialová, červená	bezbarvá, narůžovělá
F	Leucin aminopeptidáza	LAP	žlutá	bezbarvá
E	β-Glukuronidáza	GLR	žlutá	bezbarvá
D	α-Galaktosidáza	aGA	žlutá	bezbarvá
C	Eskulin	ESL	černá, tmavě hnědá	bezbarvá, světle hnědá
B	Arginin	ARG	červenofialová, červená	žlutá, světle oranžová
A	Ureáza	URE	červená, červenooranžová	žlutá, světle oranžová
Řádek 2				
H	Mannitol	MAN	žlutá, žlutooranžová	červená, oranžovočervená
G	Sorbitol	SOR	žlutá, žlutooranžová	červená, oranžovočervená
F	Trehalóza	TRE	žlutá, žlutooranžová	červená, oranžovočervená
E	Laktóza	LAC	žlutá, žlutooranžová	červená, oranžovočervená
D	Raffinóza	RAF	žlutá, žlutooranžová	červená, oranžovočervená
C	Inulin	INU	žlutá, žlutooranžová	červená, oranžovočervená
B	Melibióza	MLB	žlutá, žlutooranžová	červená, oranžovočervená
A	Ribóza	RIB	žlutá, žlutooranžová	červená, oranžovočervená



STREPTOtest 16



Kat. č.: MLT00014

Pre mikrobiológiu

Súprava STREPTOtest 16 je určená na rutinnú identifikáciu streptokokov, predovšetkým druhov, vyskytujúcich sa v humánnom klinickom materiále. Súprava umožňuje vykonať identifikáciu šesťdesiatich kmeňov pomocou šiestnástich biochemických testov. Testy sú umiestnené v jamkách mikrotitračnej doštičky, vždy dve rady po ôsmich jamkách.

Identifikácia je doplnená o testy, dodávané vo forme detekčných prúžkov: PYRAtest na detekciu aktivity pyrrolidonylarylamidázy (PYRáza, test PYR), a VPtest na detekciu tvorby acetoínu.

Súprava STREPTOtest 16 obsahuje:

- 10 mikrotitračných doštičiek (každá na identifikáciu 6 kmeňov) so sušidlom
- Návod na použitie s diferenciačnou tabuľkou
- Farebná porovnávací stupnica pre súpravu STREPTOtest 16
- 10 PE vrecúšok na inkubáciu
- Skladovací sáčok (na uloženie nezužitkovanej doštičky), 1 ks
- 60 formulárov na záznam výsledkov
- Viečko

Skladovanie, expirácia:

STREPTOtest 16 je potrebné skladovať pri teplote (+2 až +8) °C. Expirácia je vyznačená na každom balení.

Odporúčaný pracovný postup pre STREPTOtest 16

Potreby na prácu so súpravou STREPTOtest 16,

ktoré nie sú súčasťou súpravy:

- Suspenzné médium pre STREPTOtest 16 (kat. č. MLT00026 – 20 stanovení)
- Parafinový olej sterilizovaný (kat. č. MLT00042 – 370 stanovení)
- Činidlo pre test HIPURÁT (kat. č. MLT00019 – 400 stanovení)
- Činidlo pre test FOSFATÁZA (kat. č. MLT00018 – 250 stanovení)
- Petriho misky s krvným agarom
- Skúmavky (100x15) mm s 3 ml sterilného fyziologického roztoku
- Prístroj DENSILAMETER II (kat. č. INS00062)
- Stojanček na skúmavky
- Krokovacia mikropipeta 0,1 ml, sterilné špičky
- Termostat (35–37) °C
- Bežné laboratórne mikrobiologické vybavenie (kľučky, popisovače, kahan)

Na prácu s doplnkovými testmi, ktoré nie sú súčasťou súpravy:

- VPtest (kat. č. MLT00041 – 50 stanovení)
- Činidlo pre ACETOÍN test (kat. č. MLT00016)
- PYRAtest (kat. č. MLT00040 – 50 stanovení)
- Činidlo pre test PYR (kat. č. MLT00023)

Identifikačné pomôcky, ktoré nie sú súčasťou súpravy:

- Kódová kniha pre súpravu STREPTOtest 16 - umiestnená na www.erbalachema.com
- Identifikačný program ErbaExpert

Poznámka: V prípade vyhodnocovania identifikácie pomocou Kódovej knihy je pre tvorbu číselného kódu - profilu nevyhnutné poznať výsledky testu VPtest.

Upozornenie:

- Súprava je určená iba na profesionálne použitie

Dodržujte zásady pre prácu s infekčným materiálom!

Izolácia kultúr:

- Izoláciu kultúr vykonajte konvenčnou bakteriologickou technikou na neselektívnom krvnom agare (Columbia agar, krvný agar č. 4).
- Posúďte morfológiu čistej kultúry, hemolytickú aktivitu na krvnom agare, urobte test na detekciu aktivity pyrrolidonylarylamidázy (test PYR, detekčný prúžok PYRAtest), prípadne urobte testy na prítomnosť skupinového antigénu (A, B, C, D, F, G), a výsledky zaznamenajte do formulára na záznam výsledkov.

Poznámky:

- Viridujúce streptokoky a pneumokoky inkubujte v atmosfére s vyšším obsahom CO₂ (5% CO₂).
- Na identifikáciu kmeňov, patriacich do rodu *Enterococcus*, je určená súprava MIKRO-LA-TEST® EN-COCCUStest.
- Pre skupinu β-hemolytických streptokokov (streptokoky s veľkými kolóniami) je pre identifikáciu primárna informácia o prítomnosti skupinového antigénu, pre pneumokoky citlivosť k optochínu a rozpustnosť v žlči.

Príprava inokula:

- Z čistej 24 h kultúry pripravte vo fyziologickom roztoku suspenziu. Suspenziu dobre homogenizujte.
- Zákal suspenzie musí zodpovedať 3. stupňu McFarlandovej zákalovej stupnice. Slabšia alebo hustejšia suspenzia môže viesť k falošným reakciám.

Poznámka: Na dosiahnutie požadovanej hustoty suspenzie odporúčame použiť na prípravu suspenzie odberové tampóny.

Overenie čistoty inokula:

V prípade, že chcete overiť čistotu inokula, vykonajte rovnakou kľučkou akou ste pripravili suspenziu krížový rozter. Inkubujte pri 37 °C. Čistotu kultúry posudzujte po 24 hod.

**Príprava doštičky
STREPTOtest 16:**

- Otvorte alumíniový sáčok odstrihnutím tesne vedľa zvaru a vyberte doštičku.
- Pomocou skalpela odrežte príslušný počet radov (striпов) doštičky, zodpovedajúci počtu testovaných kmeňov (2 rady, tj. 2x8 testov, na identifikáciu jedného kmeňa).
- Vyrezané rady vyberte z panela, dajte dole ochrannú Al fóliu, rady umiestnite do pripraveného prázdneho rámmika. V prípade, že so súpravou MIKROLATEST® pracujete prvý raz a prázdny rámmik nemáte k dispozícii, použite rámmik prvej doštičky. Nevyužitú stripy prvej doštičky potom uložte voľne v skladovacom sáčku.
- Zaznamenajte čísla vyšetovaných kultúr na príslušné stripy.
- Zvyšok nepoužitej doštičky so sušidlom vložte do priloženého Al sáčku na uloženie nezužiteľnej 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.

Inokulácia:

- Bakteriálnu suspenziu pred použitím dôkladne pretraste.
- Inokulujte 0,1 ml suspenzie do prvých 8-mich jamiek s testmi (stĺpce H-A prvého riadku, tj. testy HIP až URE).
- Odpipetujte 1 ml suspenzie k obsahu jednej ampulky suspenzného média pre STREPTOtest 16 (obsah 1 ml).
- Zriedenú suspenziu dôkladne pretraste.
- Inokulujte 0,1 ml zriedenej suspenzie do zvyšných ôsmich jamiek (stĺpce H-A druhého riadku, testy MAN až RIB).
- Pri inokulácii dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii susedných jamiek.
- K jamkám stĺpca B a A prvého riadku (testy ARG a URE) pridajte po inokulácii 2 kvapky sterilného parafínového oleja.
- Do skúmavky so zvyškom suspenzie vo fyziologickom roztoku (1 ml suspenzie) vložte prúžok VPtestu (takým spôsobom, aby obidve zóny prúžku boli do suspenzie ponorené), a skúmavku zazátkujte.

Poznámka: Na viečku doštičky sú vytlačené skratky testov a symboly:

- (zakvapkať parafínovým olejom) a Δ (pridať činidlo)

V prípade, že viečko v priebehu práce používate na prekrytie doštičky, pred použitím jeho vnútornú stranu otrite etanolom.

Poznámka:

- S každou sériou neznámych kmeňov a pri použití novej šarže doštičiek STREPTOtest 16 naočkujte súčasne kontrolné kmene na overenie farebného vyjadrenia pozitívnych a negatívnych reakcií.

Inkubácia:

- Vložte rámmček s naočkovanými radami do inkubačného PE sáčku.
- Otvorený koniec sáčku zahňte pod doštičku, aby nedošlo k vysychaniu inokula.
- STREPTOtest 16 i skúmavky s VPtestom vložte do termostatu, nastaveného na teplotu (35–37) °C; VPtest inkubujte 2 h, doštičky STREPTOtestu 24 h.

Hodnotenie:

- Po 2 hodinách inkubácie zhodnoťte reakciu v skúmavke s VPtestom; pridajte do skúmavky po 3 kvapkách činidla pre VPT I a činidla pre VPT II, obsah skúmavky riadne pretraste a inkubujte ďalších 30 minút pri (35–37) °C. Po uplynutí tejto doby odčítajte VP reakciu a výsledok zapíšte do formulára na záznam výsledkov.
- Po 24 h inkubácie zhodnoťte reakcie na doštičke STREPTOtestu 16;
 - Skontrolujte čistotu kultúry na Petriho miske s kontrolným krížovým rozterom.
 - Na doštičke STREPTOtestu 16 zakvapkajte činidlami jamky:
 - 1. rad, jamka H (test hippurát) – 2 kvapky činidla pre HIP
 - 1. rad, jamka G (test fosfatáza) – 1 kvapka činidla pre PHS.
 - Doštičku nechajte inkubovať (5–10) minút pri teplote laboratória pre vývoj farebnej reakcie testu HIP.
 - Po uplynutí tejto doby odčítajte všetky testy a výsledok zapíšte, pomocou symbolov + a – pre pozitívne a negatívne reakcie, do formulára na záznam výsledkov.

Poznámka:

- Na hodnotenie farebných reakcií použite Farebnú porovnávaciu stupnicu na súpravu STREPTOtest 16, tabuľku „Interpretácia reakcií“ alebo sa orientujte podľa farebných reakcií kontrolných kmeňov.
- Testy LAP, GLR a aGA odporúčame hodnotiť na bielej podložke.
- Test HIP zhodnoťte do 10 minút po zakvapkaní činidlom; po uplynutí tejto doby sa môžu objaviť falošne pozitívne reakcie.

Identifikácia:

- Identifikáciu vykonajte pomocou Kódovej knihy pre súpravu STREPTOtest 16, ev. na počítači pomocou identifikačného programu ErbaExpert.
- Pri identifikácii posudzujte kultúru komplexne, vezmite do úvahy príslušnosť k serologickej skupine, hemolýzu, charakter kolónií, mikroskopiu, pôvod izolátu, ev. ďalšie znaky.
- V prípade neúspešnej identifikácie opakujte STREPTOtest 16 a ev. identifikáciu doplňte o ďalšie testy, prípadne zašlite izolát na identifikáciu do NRL pre streptokoky a enterokoky SZÚ.

- Likvidácia použitého materiálu:**
- Po použití vložte doštičku do nádoby na infekčný materiál a autoklávujte alebo zničte spálením.
 - Prázdne papierové obaly sa odovzdajú do zberu na recykláciu.

Najčastejšie možné príčiny neúspechu pri identifikácii:

- Zmiešaná alebo kontaminovaná kultúra.
- Použitie inokula malej hustoty alebo malého objemu.
- Inokulum bolo rozstriedané i do susedného radu.
- Testy argininu a ureázy neboli prevrstvené parafínovým olejom.
- Pri hodnotení bolo činidlo nakvapkané do susedného radu.
- Nedodržanie odporúčaného 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 60 klinicky významných kmeňov. Viac ako 90% bolo správne identifikovaných.

Kontrola kvality testov:

Kvalita chemikálií používaných na výrobu doštičiek STREPTOtest 16 je overovaná štandardným testovacím postupom. Vyrobenej série doštičiek sú taktiež kontrolované funkčnou skúškou pomocou kontrolných bakteriálnych kmeňov. Na prácu s doštičkami STREPTOtest 16 na Vašom pracovisku odporúčame použitie kontrolných kmeňov, uvedených v tabuľke (viď nižšie). Taktiež pre rutinnú diagnostiku praxou odporúčame 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 slúžia iba na kontrolu funkčnosti súpravy, nie na kontrolu správnosti, či úspešnosti identifikácie!**

CCM No.	Riadok 1									Riadok 2							
	H HIP	G PHS	F LAP	E GLR	D aGA	C ESL	B ARG	A URE	H MAN	G SOR	F TRE	E LAC	D RAF	C INU	B MLB	A RIB	
4043	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
4617	+	-	+	+	-	+	s	-	+	+	+	+	-	s	-	s	
1911	+	-	-	-	+	s	-	-	+	-	-	-	+	-	s	s	

Vysvetlivky:

+ = pozitívna reakcia - = negatívna reakcia s = slabo pozitívna reakcia

- *Streptococcus constellatus subsp. constellatus* CCM 4043
- *Streptococcus uberis* CCM 4617
- *Aerococcus viridans* CCM 1911 (ATCC 29503)

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.

Poznámka:

na kontrolu pozitívnej reakcie testu URE je možné použiť kmeň *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticum* CCM 4296

Ochrana zdravia:

Komponenty súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné.

INTERPRETÁCIA REAKCIÍ

Stĺpec	Test	Skratka testu	Reakcia	
			pozitívna	negatívna
Riadok 1				
H	Hippurát	HIP	modrá	bezfarebná, slabo namodralá
G	Fosfatáza	PHS	červenofialová, červená	bezfarebná, ružovkastá
F	Leucin aminopeptidáza	LAP	žltá	bezfarebná
E	β-Glukuronidáza	GLR	žltá	bezfarebná
D	α-Galaktosidáza	aGA	žltá	bezfarebná
C	Eskulin	ESL	čierna, tmavohnedá	bezfarebná, svetlohnedá
B	Arginin	ARG	červenofialová, červená	žltá, svetlooranžová
A	Ureáza	URE	červená, červenooranžová	žltá, svetlooranžová
Riadok 2				
H	Mannitol	MAN	žltá, žltlooranžová	červená, oranžovočervená
G	Sorbitol	SOR	žltá, žltlooranžová	červená, oranžovočervená
F	Trehalóza	TRE	žltá, žltlooranžová	červená, oranžovočervená
E	Laktóza	LAC	žltá, žltlooranžová	červená, oranžovočervená
D	Raffinóza	RAF	žltá, žltlooranžová	červená, oranžovočervená
C	Inulín	INU	žltá, žltlooranžová	červená, oranžovočervená
B	Melibióza	MLB	žltá, žltlooranžová	červená, oranžovočervená
A	Ribóza	RIB	žltá, žltlooranžová	červená, oranžovočervená



STREPTOtest 16



Cat. No.: MLT00014

For microbiology

The kit STREPTOtest 16 is intended for the routine identification of streptococci, especially of the species in the humane clinical material. It is a ready-to-use microwell plate system with 16 biochemical tests. Kit enables sixty examinations.

The identification is complemented by tests supplied in form of detection strips: PYRAtest for the detection of the pyrrolidonylarylamidase activity (PYRase, test PYR) and VPtest for the detection of the acetoin formation.

The kit STREPTOtest 16 contains:

- 10 microtitration plates (for identification of 6 strains each) with desiccant.
- Instructions for use including the differentiation table
- Colour scale for STREPTOtest 16
- 10 polyethylene bags for incubation
- Storage bag (for storage of open plate), 1 pc
- 60 record sheets
- Lid

Storage, expiration:

STREPTOtest 16 should be stored at (+2 to +8) °C. Expiration is indicated on each package.

Recommended working procedure for STREPTOtest 16

Material required for work (not included in the kit):

- Suspension medium for STREPTO test 16 (Cat. No. MLT00026 – 20 determinations)
- Paraffin oil sterilized (Cat. No. MLT00042 – 370 determinations)
- Reagent for HIPPURATE test (Cat. No. MLT00019 – 400 determinations)
- Reagent for PHOSPHATASE test (Cat. No. ML00018 – 250 determinations)
- Petri dishes with the blood agar
- Test tubes (100x15) mm with 3 ml of a sterile physiological solution
- Instrument DENSILAMETER II (Cat. No. INS00062)
- Test tubes rack
- Automatic micropipette 0.1 ml, sterile tips
- Thermostat (35–37) °C
- Equipment of a usual microbiological laboratory (loops, markers, burner)

Material required for work with additional tests

(not included in the kit):

VPtest (Cat. No. MLT00041 – 50 determinations)
 Reagent for ACETOIN test (Cat. No. MLT00016)
 PYRAtest (Cat. No. MLT00040 – 50 determinations)
 Reagent for PYR test (Cat. No. MLT00023)

Evaluation equipment (not included in the kit):

- Code Book for STREPTOtest 16 - located at www.erbalachema.com
- The Erba Expert Identification Program

Note:

If Code book is used for evaluation it is necessary to perform VPtest to create correct profile.

Caution:

- For professional use only

Follow principles for working with infectious material!

Isolation of cultures:

- Perform the isolation of individual cultures by using usual bacteriological technique on the blood agar (Columbia agar, blood agar no. 4).
- Evaluate the morphology of the pure culture, the haemolytical activity on the blood agar, perform the test for the detection of the pyrrolidonylarylamidase activity (test PYR, detection strip PYRAtest), resp. other tests confirming the presence of a group antigene (A, B, C, D, F, G) and record the results obtained in the record sheet.

Notes:

- Incubate the viridans streptococci and pneumococci in 5% CO₂ atmosphere.
- To identify enterococci, kit EN-COCCUStest is recommended.
- For β-haemolytic streptococci (streptococci with large colonies), the presence of a group antigen is the primary information whereas for pneumococci, it is the sensitivity to optochin and the solubility in bile.

Preparation of inoculum:

- Prepare a suspension of a pure 24 hours old culture in a physiological saline. Homogenize the suspension thoroughly.
- The suspension turbidity has to be equal to the McFarland's No. 3 turbidity scale.

Note:

- To obtain the necessary suspension density, it is recommended to use swabs for the suspension preparation.

Culture purity control:

If required confirm purity of the suspension by streaming-out sample from the inoculated suspension medium on cultivation medium. Incubate at 37 °C. Check after 24 hours

Preparation of the STREPTOtest 16 plate:

- Open the aluminium sachet close to the weld and take out the plate.
- Cut off required number of strips from plate.
- Remove the adhesive tape from individual strips and insert them into prepared frame. In case, that 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.

Inoculation:

- Homogenize the bacterial suspension thoroughly before use.
- Inoculate 0.1 ml of the suspension into the first 8 wells (the columns H-A of the first row, i.e. the tests HIP through URE).
- Pipette 1 ml of the suspension to the volume of one vial with the suspension medium for STREPTOtest 16 (1 ml).
- Homogenize the diluted suspension thoroughly.
- Inoculate 0.1 ml of the diluted suspension into the remaining eight wells (columns H-A of the second row, the tests MAN through RIB).
- Avoid the contamination of adjacent microwells during the inoculation process.
- After the inoculation, add 2 drops of the sterile paraffin oil into the wells of the column B and A in the first row (the tests ARG and URE).
- Insert the VPtest strip in the test tube containing the remaining suspension (1 ml of suspension), so that both strip zones were submerged in the suspension and provide the test tube with a stopper.

Note: a lid is printed with abbreviated names of tests and graphic symbols:

- (drop paraffine oil) and ◊ (drop reagent).

Clean the inside of the lid by ethanole just before usage.

Note:

- Inoculate control strains simultaneously with any series of unknown strains and when using a new batch of STREPTOtest 16 to control the colour expression of positive and negative reactions.

Incubation:

- Put the frame with inoculated strips into the polyethylene bag for incubation.
- Fold the open end of the bag under the plate to avoid desiccation.
- Incubate the VPtest for 2 hours and the STREPTOtest 16 plates for 24 hours at 35–37 °C.

Results, evaluation:

- Evaluation of VPtest: add always 3 drops of the reagent for VPT I and 3 drops for VPT II into the test tube, shake thoroughly and incubate for other 30 minutes at (35–37)°C. Then read the VP reaction and record the result.
- Evaluation of STREPTOtest 16:
 - drop the reagents into the following wells:
 - 1st row, well H (hippurate test) – 2 drops of the reagent for HIP
 - 1st row, well G (phosphatase test) – 1 drop of the reagent for PHS.
 - let the plate incubate for 5–10 minutes at the laboratory temperature for correct development of colour reaction.
 - read all tests and record the results into the record sheet.

Note:

- Use the Colour scale for STREPTOtest 16, the table "Interpretation of reactions" or proceed in accordance with colour reactions of the control strains to evaluate the colour reactions properly.
- It is recommended to read the tests LAP, GLR and aGA against white background.
- The test HIP should be interpreted within 10 minutes after the reagent addition, after this period, false positive reactions might appear.

Identification:

- Use the Code book or Identification software ErbaExpert.
- To complete the identification evaluate the culture as a complex, considering the serological group, the haemolysis, the kind of colonies, the microscopy, the origin of the isolate as well as other typical characters.
- In the case of an identification failure, repeat STREPTOtest 16 and complement the identification by other tests.

Disposal of the used material:

- Put the used plate into the vessel intended for the infectious material and autoclave or destroy it by incineration.
- Put paper packaging waste to recycling.

The most frequent causes of identification failure:

- A mixed or contaminated culture.
- Inoculum applied of a low density or a small volume.
- Inoculum was spread even over the adjacent row.
- The arginine and urease tests have not been overlaid by the paraffin oil.
- The reagent was dropped into the adjacent well.
- Failure to follow the recommended working procedure.
- It might be an atypical strain or representative of a species or an akin genus that has not been included in the Identification table.

Performance:

The kit was tested on a set of 60 clinically important strains. The identification of more than 90 % strains was correct.

Quality control of tests:

The kits are systematically quality controlled at various stages of their manufacture. The batches are checked by means of standard bacterial cultures. For those who wish to perform their own quality control tests, cultures mentioned in the table below are recommended. **These strains are intended for check-up of the functionality of the kit, not for check-up of accuracy or effect of the identification!**

CCM No.	Row 1								Row 2							
	H HIP	G PHS	F LAP	E GLR	D aGA	C ESL	B ARG	A URE	H MAN	G SOR	F TRE	E LAC	D RAF	C INU	B MLB	A RIB
4043	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
4617	+	-	+	+	-	+	s	-	+	+	+	+	-	s	-	s
1911	+	-	-	-	+	s	-	-	+	-	-	-	+	-	s	s

Legend:

+ = positive reaction - = negative reaction s = slightly positive reaction

- *Streptococcus constellatus subsp. constellatus* CCM 4043
- *Streptococcus uberis* CCM 4617
- *Aerococcus viridans* CCM 1911 (ATCC 29503)

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 in a lyophilized form.

Note:

For the purpose of checking the positive reaction of the URE test, it is possible to use the strain *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticum* CCM 4296

Health protection:

Components of the kit are not classified as dangerous.

INTERPRETATION OF REACTIONS

Column	Test	Code	Reaction	
			positive	negative
Row 1				
H	Hippurate	HIP	blue	colourless, pale bluish
G	Phosphatase	PHS	red-to-violet, red	colourless, pale pinky
F	Leucine aminopeptidase	LAP	yellow	colourless
E	β-Glucuronidase	GLR	yellow	colourless
D	α-Galactosidase	aGA	yellow	colourless
C	Esculin	ESL	black, dark brown	colourless, pale brown
B	Arginine	ARG	red-to-violet, red	yellow, pale orange
A	Urease	URE	red, red-to-orange	yellow, pale orange
Row 2				
H	Mannitol	MAN	yellow, yellow-to-orange	red, orange-to-red
G	Sorbitol	SOR	yellow, yellow-to-orange	red, orange-to-red
F	Trehalose	TRE	yellow, yellow-to-orange	red, orange-to-red
E	Laktose	LAC	yellow, yellow-to-orange	red, orange-to-red
D	Raffinose	RAF	yellow, yellow-to-orange	red, orange-to-red
C	Inulin	INU	yellow, yellow-to-orange	red, orange-to-red
B	Melibiose	MLB	yellow, yellow-to-orange	red, orange-to-red
A	Ribose	RIB	yellow, yellow-to-orange	red, orange-to-red

STREPTOtest 16

IDENTIFICATION TABLE

Serol. group	STREPTOtest 16																		Identification
	Row 1									Row 2									
	H	G	F	E	D	C	B	A	A	H	G	F	E	D	C	B	A	A	
EM	YR	PT	IP	HS	PL	GA	ER	AL	MS	OR	TE	LA	RA	IN	ML	RI	MB		
A	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	S. pyogenes	
B	(+)	-	+	+	+	d	-	-	+	-	-	(+)	d	-	-	-	(+)	S. agalactiae	
C	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	d	+	+	-	-	S. dysgalactiae	
C	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	S. equi subsp. equi	
C	+	-	-	-	+	+	+	-	(-)	+	-	-	+	+	-	-	(+)	S. equi subsp. zooepidemicus	
C	+	-	-	-	+	+	(+)	-	(-)	+	-	-	+	d	-	-	+	S. equisimilis	
G	+	-	-	-	+	+	(-)	d	d	+	-	-	(-)	(+)	-	-	+	S. group G	
L	+	-	-	d	+	+	+	-	-	+	-	-	+	(+)	-	-	+	S. group L	
E,P,U,V	+	-	+	+	+	+	d	+	+	-	+	(+)	+	d	-	-	(+)	S. porcinus	
R,S,RS,T	-	d	-	-	+	+	(+)	(+)	+	-	-	-	+	+	d	d	-	S. suis	
-,F,C,(G,A)	d	-	+	-	+	+	-	d	+	+	-	(-)	-	+	(+)	d	(-)	S. anginosus	
-,F(C,G)	d	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	(+)	(-)	-	-	d	S. constellatus	
-,F,C(G)	d	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	S. intermedius	
	-	-	+	-	-	+	-	(+)	+	-	-	+	+	+	+	(+)	(+)	S. mutans "group"	
	-	-	+	-	d	+	-	-	+	-	d	-	-	d	d	(+)	d	S. salivarius	
	-	-	+	-	-	+	-	-	d	-	+	-	-	(+)	-	-	-	S. vestibularis	
D	-	-	+	-	-	+	-	-	d	+	-	-	+	+	+	(+)	d	S. bovis I	
D	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	(-)	+	+	d	S. bovis II/1	
D	-	-	+	-	-	+	d	(+)	+	-	-	-	-	+	+	d	(-)	S. bovis II/2	
D	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	(-)	-	(-)	d	(-)	(-)	S. equinus	
-, E	-	(-)	+	+	d	+	+	(-)	+	+	-	+	+	+	+	(-)	+	S. uberis	
-, E	-	(-)	+	d	d	+	(-)	(-)	+	+	-	+	+	+	(-)	(-)	-	S. parauberis	
	-	(-)	-	+	d	+	d	-	(-)	(-)	-	d	-	(+)	(+)	-	-	S. acidominimus	
	-	(-)	-	-	+	-	+	(+)	(-)	d	-	-	-	+	+	(+)	d	S. pneumoniae	
	-	-	-	-	d	+	-	d	-	+	-	-	(-)	-	+	d	-	S. mitis 2	
	-	-	-	-	d	+	-	d	-	-	-	-	-	(-)	+	d	-	S. oralis / mitis 1	
	-	-	-	-	+	-	d	+	+	-	-	(-)	(+)	+	d	(+)	d	S. sanguis esl+	
	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	(+)	+	-	(+)	-	S. sanguis esl-	
	-	-	-	-	+	+	-	d	+	+	-	-	+	(+)	d	(+)	d	S. gordonii	
	-	d	(-)	(+)	-	-	(-)	d	(+)	-	-	d	(-)	+	(+)	d	(-)	Aerococcus viridans	

Legend:

- + = positive reaction
- (+) = mostly positive reaction
- HEM = β haemolysis
- d = variable reaction
- (-) = mostly negative reaction
- PYR = pyrrolidonylamidase (PYRAtest)
- VPT = acetoin (VPtest)
- = negative reaction

Note: In the case of a non-explicit differentiation of species, it is possible to classify the viridans streptococci into one of the following groups:

- S. salivarius group = S. salivarius, S. vestibularis
- „S. milleri“ group = S. anginosus, S. constellatus, S. intermedius
- S. sanguis group = S. sanguis, S. gordonii
- S. mitis group = S. mitis, S. oralis

(RUOFF, K. L. 1995. Streptococcus, p. 299–307. In: P.R. Murray et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. ASM, Washington, D.C.)

The facultatively anaerobic, catalase negative, gram-positive cocci:

Genus	PYR	LAP	Vancomycine	Bile-esculin	NaCl 6.5%	Satellitism
Streptococcus	-	+	C	-	-	-
Enterococcus	+	+	C ³⁾	+	+	-
Lactococcus	+	+	C	+	d	-
Vagococcus	+	+	C	+	+	-
Globicatella	+	-	C	-	+	-
Leuconostoc	-	-	R	d	d	-
Pediococcus	-	+	R	+	d	-
Aerococcus ¹⁾	+	-	C	d	+	-
Gemella	+	d	C	-	-	-
Lactobacillus	-	-	C ³⁾	d	d	-
Helcococcus	+	-	C	+	+	-
Abiotrophia ²⁾	+	+	C	-	-	+

Note:

a simplified scheme for differentiation of akin genera

1) A. urinae = PYR-, LAP+

2) Formerly indicated as satellite, nutritionally deficient, thiol dependent streptococci


3) Representatives of the Enterococcus and Lactobacillus genus exhibit the vancomycine resistance in 1 % of cases

USED SYMBOLS


REF Catalogue number

IVD In vitro diagnostics

 Manufacturer

 See instruction for use

LOT Lot number

 Storage temperature

 Expiry date



СТРЕПТОтест 16



Ном. но.: MLT00014

Для микробиологии

Набор СТРЕПТОтест 16 предназначен для биохимической идентификации стрептококков. Набор позволяет провести 60 определений по 16 биохимическим тестам с возможностью визуальной и автоматизированной оценки результатов биохимических реакций.

Идентификация дополнена тестами на бумажных полосках: ПИРАтест для выявления пирролидонилариламидазы и ВПтест для выявления образования ацетона.

Набор СТРЕПТОтест 16 содержит:

- 10 микротитровальных пластинок (каждая для идентификации 6 штаммов) с силикагелем
- Инструкцию для пользователя с Идентификационной таблицей
- Цветная шкала для СТРЕПТОтест 16
- 10 полиэтиленовых пакетиков для инкубации
- Пакет для хранения частично использованной пластинки
- 60 бланков для регистрации результатов
- Крышка

Хранение, срок годности:

СТРЕПТОтест 16 следует хранить при температуре от +2 до +8 °С. Срок годности указан на каждой упаковке.

Инструкция к постановке СТРЕПТОтест 16

Материалы (не входят в набор):

- Суспензионную среду для СТРЕПТОтеста 16, ном. но.: MLT00026 – 20 определений
- Парафиновое масло стерильное, ном. но.: MLT00042 – более чем для 370 определений
- Реактив для теста ГИППУРАТ, ном. но.: MLT00019 – более чем для 400 определений
- Реактив для теста ФОСФАТАЗА, ном. но.: MLT00018 – более чем для 250 определений
- Прибор ДЕНСИЛАМЕТР II, ном. но. INS00062 или пробирки с суспензией 3 степени мутности по шкале McFarland (0,3 мл 1% раствора BaCl₂·2H₂O и 9,7 мл 1% раствора H₂SO₄)
- Термостат на (35–37) °С
- Автоматическая микропипетка 0,1 мл, стерильные наконечники
- Пробирки (100x15) мм с 3 мл стерильного физиологического раствора
- Чашки Петри с кровавым агаром
- Штатив для пробирок
- Традиционное оснащение микробиологической лаборатории (петли, маркеры, горелка)

Дополнительные поставляемые материалы (не входят в набор):

- ПИРАтест, ном. но.: MLT00040 – диагностические полоски для выявления пирролидонилариламидазы (тест ПИР) – 50 определений
- Реактив для теста ПИР, ном. но. MLT00023 – 500 определений
- ВПтест, ном. но.: MLT00041 – диагностические полоски для выявления образования ацетона – 50 определений
- Реактив для теста АЦЕТОИН, ном. но.: MLT00016 (реактив для ВПтеста) – более чем для 120 определений

Пособия для идентификации (не входят в набор):

- Книга кодов для СТРЕПТОтест 16 - расположена по адресу www.erbalachema.com (раздел Микробиология)
- Программа идентификации ErbaExpert

Примечание:

В случае оценки идентификации при помощи Книги кодов для определения цифрового кода – профиля необходимо знать результаты теста ВПтест.

Предупреждение:

- Тест предназначен только для квалифицированного использования в микробиологической лаборатории.

Строго соблюдать правила работы с инфицированным материалом!

Выделение культуры:

- Выделите чистую культуру, пользуясь общепринятыми в микробиологии методами на агаре с кровью барана (напр. Columbia агар).
- Учите морфологию чистой культуры, каталазную активность, гемолитическую активность на кровавом агаре, поставьте тест для выявления активности пирролидонилариламидазы (тест ПИР, диагностическая полоска ПИРАтеста) или же тесты для определения серологической группы стрептококков (А, В, С, D, F, G) и результаты запишите в бланк.
- Используйте СТРЕПТОтест 16 для идентификации грамположительных, каталазоотрицательных и ПИР-отрицательных кокков (исключение – *S. ruogenes* ПИР-положительный)

Примечание:

- Зеленытие стрептококки и *S. pneumoniae* инкубируйте в атмосфере, содержащей 5% CO₂.
- Для идентификации штаммов, принадлежащих к роду Энтерококков, предназначен набор MIKRO-LA-TEST® ЭН-КОККУСтест.
- Для группы β-гемолитических стрептококков (стрептококки отличающиеся большими колониями) самой важной является информация о присутствии группового антигена, для *S. pneumoniae* чувствительность к оптохину и растворимость желчью.

Приготовление бактериальной суспензии:

- Из чистой 24 часовой культуры приготовьте суспензию в физиологическом растворе (возможно Использование ватных тампонов).
- Тщательно гомогенизируйте суспензию.
- Мутность суспензии должна соответствовать 3 степени мутности по шкале McFarland. Более жидкая или более густая суспензия может привести к ложным реакциям.
- Параллельно сделайте посев суспензии культуры на неселективную среду для проверки чистоты культуры, ее ростовых свойств и/или для постановки дополнительных тестов; инкубируйте в течение 24 часов при температуре 37 °С.

Подготовка

стриппированных пластинок:

- Откройте алюминиевую упаковку по сварному шву.
- Достаньте пластинку из алюминиевого пакета.
- Возьмите необходимое количество стрипов из пластинки (1 двухрядный стрип содержит 16 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:

неравномерное распределение субстрата в лунке не влияет на функциональность теста.

Инокуляция:

- Суспензию бактерий тщательно встряхните.
- Инокулируйте по 0,1 мл суспензии в первые 8 лунок с тестами (колонки H-A первого ряда, т.е. тесты с HIP по URE).
- Добавьте 1 мл исходной суспензии в ампулу с 1 мл суспензионной среды для СТРЕПТО-теста 16.
- Разведенную суспензию тщательно встряхните.
- Инокулируйте по 0,1 мл разведенной суспензии в остальные 8 лунок (колонки H-A второго ряда, тесты с MAN по RIB).
- Исключите возможность заражения соседних лунок.
- После инокуляции в лунки 1-ого ряда колонок В и А (тесты ARG и URE) добавьте по 2 капли парафинового масла.
- Постановка ВПтеста: поместите полоску ВПтест стерильным пинцетом в пробирку с исходной суспензией (объем 1 мл).

Примечание:

Крышка пластинки имеет сокращенные названия тестов и символы:

- добавить (парафиновое масло) и Δ (реактив)

Если Вы используете крышку для накрытия пластинки, продезинфицируйте ее внутреннюю сторону спиртом.

Инкубация:

- После инокуляции накройте пластинку предохранительной пленкой.
- Вложите пластинку в пакет из полиэтилена, открытый конец пакета загните под пластинку, чтобы инокулят не высохал при инкубации.
- Пластинку СТРЕПТОтест 16 и пробирки с ВПтестом инкубируйте при температуре (35–37) °С, в течение 24 и 2 часов соответственно.

Учет результата:

- После 2 часов инкубации учтите ВПтест: Добавьте по 3 капли реактива VPT I и VPT II в пробирку с ВПтестом, тщательно встряхните и поместите в термостат (37 °С) на 30–40 минут. после инкубации учтите результат VP реакции.
- После 24 часов инкубации СТРЕПТОтест 16:
 - проверьте рост и чистоту культуры на контрольной чашке Петри.
 - добавьте реактивы в следующие лунки:
 - 1-ый ряд, лунка H (тест HIP) – 2 капли Реактива для теста ГИППУРАТ,
 - 1-ый ряд, лунка G (тест PHS) – 1 каплю Реактива для теста ФОСФАТАЗА.
 - инкубируйте пластинку 5–10 минут при комнатной температуре для хорошего проявления цветовой реакции.
 - учтите результаты всех реакций СТРЕПТОтеста 16 и занесите в бланки.

Примечание:

- При оценке СТРЕПТОтест 16 ориентируйтесь по Цветной шкале сравнения, таблице «Интерпретация реакций», и/или по цветным реакциям контрольных штаммов.
- Чтение тестов LAP, GLR и aGA проводите на белом фоне.
- Тест HIP учтите не позднее 10 минут после добавления реактива. по истечении упомянутого времени могут оказаться ложно положительные реакции.

Идентификация:

- Идентификацию проводите с помощью «Идентификационной таблицы» или Книги кодов для набора СТРЕПТОтест 16, или с помощью компьютерной программы ErbaExpert.
- При окончательной идентификации следует учитывать всю дополнительную информацию (серологическую группу, гемолиз, характер колоний, микроскопию, источник выделения и т.д.).
- Если культуру не удается идентифицировать следует повторить СТРЕПТОтест 16 или же дополнить идентификацию другими тестами.

Дезинфекция:

- После употребления микротестсистемы обеззараживаются в дезинфицирующем растворе либо автоклавируются.
- Бумажную упаковку сдайте в макулатуру.

Наиболее частые причины неудач при идентификации:

- Смешанная культура.
- Использование суспензий с недостаточной мутностью или в недостаточном объеме
- Перекрестная контаминация суспензий в расположенных рядом лунках.
- Соответствующие лунки не заполнены парафиновым маслом.
- Попадание реактивов в лунки соседнего ряда.
- Не точно соблюдена методика постановки теста.
- Возможно выделение штамма с нетипичными свойствами или вида, данные которого не заложены в таблицу.

Свойства набора:

Набор был протестирован на комплекте 60 клинически важных штаммах. Свыше 90% было идентифицировано правильно.

Контроль качества:

Химический контроль качества реактивов, используемых при производстве СТРЕПТОтест 16, осуществляется стандартными методами. Производственные партии пластинок контролируются с помощью контрольных референтных бактериальных культур. Для работы с пластинками СТРЕПТОтест 16 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

CCM No.	Ряд 1								Ряд 2							
	H HIP	G PHS	F LAP	E GLR	D aGA	C ESL	B ARG	A URE	H MAN	G SOR	F TRE	E LAC	D RAF	C INU	B MLB	A RIB
4043	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
4617	+	-	+	+	-	+	с	-	+	+	+	+	-	с	-	с
1911	+	-	-	-	+	с	-	-	+	-	-	-	+	-	с	с

Пояснения:

+ = положительная реакция - = отрицательная реакция с = слабая реакция

- *Streptococcus constellatus subsp. constellatus* CCM 4043
- *Streptococcus uberis* CCM 4617
- *Aerococcus viridans* CCM 1911 (ATCC 29503)

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

Примечание:

для контроля положительной реакции теста URE можно использовать штамм *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticum* CCM 4296.

Меры предосторожности:

Набор реагентов не относится к категории опасных.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕАКЦИЙ

Колонка	Тест	Код	Реакция	
			положительная	отрицательная
Ряд 1				
H	Гиппурат	HIP	синяя	бесцветная, голубоватая
G	Фосфатаза	PHS	красно-фиолетовая	бесцветная, розоватая
F	Лейцин аминопептидаза	LAP	желтая	бесцветная
E	β-глюкуронидаза	GLR	желтая	бесцветная
D	α-галактозидаза	aGA	желтая	бесцветная
C	Эскулин	ESL	черная, темно-коричневая	бесцветная, светло-коричневая
B	Аргинин	ARG	красно-фиолетовая, красная	желтая, светло-оранжевая
A	Уреаза	URE	красная, красно-оранжевая	желтая, светло-оранжевая
Ряд 2				
H	Маннитол	MAN	желтая, светло-оранжевая	красная, оранжево-красная
G	Сорбитол	SOR	желтая, светло-оранжевая	красная, оранжево-красная
F	Трегалоза	TRE	желтая, светло-оранжевая	красная, оранжево-красная
E	Лактоза	LAC	желтая, светло-оранжевая	красная, оранжево-красная
D	Раффиноза	RAF	желтая, светло-оранжевая	красная, оранжево-красная
C	Инулин	INU	желтая, светло-оранжевая	красная, оранжево-красная
B	Мелибиоза	MLB	желтая, светло-оранжевая	красная, оранжево-красная
A	Рибоза	RIB	желтая, светло-оранжевая	красная, оранжево-красная

СТРЕПТОТест 16

ИДЕНТИФИКАЦИОННАЯ ТАБЛИЦА

Дополнительные тесты				СТРЕПТОТест 16																Идентификация						
Серогруппа	H E M	P Y R	V P T	Ряд 1								Ряд 2														
				H	G	F	E	D	C	B	A	H	G	F	E	D	C	B	A							
				P	I	S	P	R	A	G	a	L	G	A	S	R	G	M	S	T	L	R	A	I	M	R
A	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	S. pyogenes
B	(+)	-	+	+	+	+	d	-	-	+	-	-	-	-	(+)	d	-	-	-	(+)	-	-	-	-	(+)	S. agalactiae
C	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	d	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	S. dysgalactiae
C	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S. equi subsp. equi
C	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	(+)	S. equi subsp. zooepidemicus
C	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	d	-	-	-	-	-	-	-	+	S. equisimilis
G	+	-	-	-	+	+	(-)	d	d	+	-	-	-	-	(-)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	S. group G
L	+	-	-	d	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	S. group L
E,P,U,V	+	-	+	+	+	+	+	d	+	+	-	+	(+)	+	d	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	(+)	S. porcinus
R,S,RS,T	-	d	-	-	-	+	+	(+)	(+)	+	-	-	-	-	+	+	d	d	-	-	-	-	-	-	-	S. suis
-,F,C, (G,A)	d	-	+	-	+	+	-	d	+	+	-	(-)	-	+	(+)	d	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	S. anginosus
-,F (C,G)	d	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	(+)	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	d	S. constellatus
-,F,C (G)	d	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S. intermedius
	-	-	+	-	-	+	-	(+)	+	-	-	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	S. mutans "group"
	-	-	+	-	d	+	-	-	+	-	d	-	-	-	d	d	(+)	d	-	-	-	-	-	-	-	S. salivarius
	-	-	+	-	-	+	-	-	d	-	+	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S. vestibularis
D	-	-	+	-	-	+	-	-	d	+	-	-	+	-	+	+	+	(+)	d	-	-	-	-	-	-	S. bovis I
D	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	(-)	+	+	d	(+)	-	-	-	-	-	-	S. bovis II/1
D	-	-	+	-	-	+	d	(+)	+	-	-	-	-	-	+	+	d	(-)	d	-	-	-	-	-	-	S. bovis II/2
D	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	(-)	-	(-)	d	(-)	(-)	d	-	-	-	-	-	-	-	S. equinus
-, E	-	(-)	+	+	d	+	+	(-)	+	+	-	+	+	+	+	+	(-)	+	-	+	-	-	-	-	+	S. uberis
-, E	-	(-)	+	d	d	+	(-)	(-)	+	+	-	+	+	+	+	+	(-)	(-)	-	(+)	-	-	-	-	-	S. parauberis
	-	(-)	-	+	d	+	d	-	-	(-)	-	d	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S. acidominimus
	-	(-)	-	-	-	+	-	(+)	(-)	d	-	-	-	-	+	+	(+)	d	-	-	-	-	-	-	-	S. pneumoniae
	-	-	-	-	d	+	-	d	-	+	-	-	(-)	-	+	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	S. mitis 2
	-	-	-	-	d	+	-	d	-	-	-	-	-	(-)	+	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	S. oralis / s. mitis 1
	-	-	-	-	-	+	-	d	+	+	-	-	(-)	(+)	+	d	(+)	d	-	-	-	-	-	-	-	S. sanguis esl+
	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	(+)	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	S. sanguis esl-
	-	-	-	-	+	+	-	d	+	+	-	-	-	+	(+)	d	(+)	d	-	-	-	-	-	-	-	S. gordonii
	-	d	(-)	(+)	-	-	(-)	d	(+)	-	-	d	(-)	+	(+)	d	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	Aerococcus viridans

Пояснения:

+ = положительная реакция d = вариабельная реакция - = отрицательная реакция
 (+) = большей частью положительная реакция (-) = большей частью отрицательная реакция
 HEM = β-гемолиз PYR = пирролидонилариламидаза (ПИРАТест) VPT = ацетоин (ВПтест)

Примечание: для зеленящих стрептококков в случае неоднозначной идентификации можно проводить идентификацию до группы:

- S. salivarius group = S. salivarius, S. vestibularis
- „S. milleri“ group = S. anginosus, S. constellatus, S. intermedius
- S. sanguis group = S. sanguis, S. gordonii
- S. mitis group = S. mitis, S. oralis

(RUOFF, K. L. 1995. Streptococcus, p. 299–307. In: P.R. Murray et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. ASM, Washington, D.C.)

Факультативно анаэробные, каталаза отрицательные, грамположительные кокки:

Род	PYR	LAP	Ванкомицин	Желчи-эскулин	NaCl 6,5%	Сателлитизм
Streptococcus	-	+	C	-	-	-
Enterococcus	+	+	C ³⁾	+	+	-
Lactococcus	+	+	C	+	d	-
Vagococcus	+	+	C	+	+	-
Globicatella	+	-	C	-	+	-
Leuconostoc	-	-	R	d	d	-
Pediococcus	-	+	R	+	d	-
Aerococcus ¹⁾	+	-	C	d	+	-
Gemella	+	d	C	-	-	-
Lactobacillus	-	-	C ³⁾	d	d	-
Helcococcus	+	-	C	+	+	-
Abiotrophia ²⁾	+	+	C	-	-	+

Примечание:

Упрощенная схема для дифференциации родственных родов

- 1) A. urinae = PYR-, LAP+
 - 2) Раньше обозначаемые как сателлитные, по питательности дефицитные, тиол-зависимые стрептококки
 - 3) Представители рода Enterococcus и Lactobacillus в 1% случаев резистентны к ванкомицину.
- + = положительная реакция - = отрицательная реакция c = слабая реакция
 для контроля положительной реакции теста URE можно использовать штамм Staphylococcus cohnii subsp. urealyticum CCM 4296.

Пояснения:

Примечание:

ИСПОЛЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ

Номер каталога
 Ин vitro диагностика
 Производитель
 Перед использованием Внимательно изучайте инструкцию
 Номер партии
 Температура хранения
 Срок годности
 Национальный знак соответствия для Украины

1000385



STREPTOtest 16



Nr kat.: MLT00014

Do celów mikrobiologicznych

Zestaw STREPTOtest 16 przeznaczony jest do rutynowej identyfikacji paciorkowców, szczególnie gatunków znajdujących się w ludzkim materiale klinicznym.

Zestaw umożliwia przeprowadzenie identyfikacji sześćdziesięciu szczepów, każdy za pomocą szesnastu testów biochemicznych. Testy rozmieszczone są w studzienkach mikro płytki, zawsze dwa rzędy z ośmioma studzienkami.

Identyfikację uzupełniają testy do wykrywania obecności acetoiny – VPtest oraz do wykrywania obecności arylamidazy pyrrolidonylowej – PYRAtest, w postaci pasków diagnostycznych.

Zestaw STREPTOtest 16 zawiera:

- 10 paneli identyfikacyjnych (każdy do identyfikacji 6 szczepów) z wysuszczeniem
- Instrukcję obsługi wraz z tabelą identyfikacyjną
- Porównawczą skalę barw dla STREPTOtest 16
- 10 PE torebek do inkubacji
- Torebkę do przechowywania przeznaczoną do ułożenia niezużytej reszty płytki, 1szt.
- 60 formularzy do wpisywania wyników
- Pokrywę

Przechowywanie, termin ważności:

Zestaw STREPTOtest 16 należy przechowywać w lodówce temperaturze +2 do +8°C. Termin ważności podany jest na każdym opakowaniu.

Zalecany sposób postępowania dla STREPTOtest 16

Materiały potrzebne do pracy z zestawem STREPTOtest 16,

które nie wchodzi w skład zestawu:

- Nośnik zawiesziny dla STREPTOtest 16, nr kat. MLT00026 – 20 oznaczeń/1op.
- Odczynnik do testu FOSFATAZA, nr kat. MLT00018 – 250 oznaczeń/1 op.
- Odczynnik do testu HIPPURAT, nr kat. MLT00019 – 400 oznaczeń/1 op.
- Sterylizowany olej parafinowy, nr kat. MLT00042 – 370 oznaczeń/1op.
- Szalki Petriego z agarem krwawym
- Probówki 100 x 15 mm z 2,6 ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej
- Urządzenie DENSILAMETER II (nr kat. INS00062)
- Stojak dla probówek
- Pipeta do dozowania 0,1 ml, sterylne końcówki
- Cieplarka 35-37 °C
- Podstawowy sprzęt laboratorium mikrobiologicznego (ezy, markery, palnik)

Materiały potrzebne do pracy z testami uzupełniającymi,

które nie wchodzi w skład zestawu:

- VPtest, nr kat. MLT00041 – 50 oznaczeń/1 op.
- Odczynnik do testu ACETOINA, nr kat. MLT00016 – 120 oznaczeń/1 op.
- PYRAtest, nr kat. MLT00040 – 50 oznaczeń/1 op.
- Odczynnik do testu PYR, nr kat. MLT00023 – 360 oznaczeń/1 op.

Niezbędne pomoce identyfikacyjne,

które nie wchodzi w skład zestawu:

- Książka kodów do STREPTOtest16 - znajduje się na stronie www.erbalachema.com (sekcja poświęcona mikrobiologii)
- Program identyfikacyjny ErbaExpert

Uwaga:

W przypadku oceny identyfikacji za pomocą Książki kodów dla obliczenia kodu cyfrowego - profilu niezbędna jest znajomość wyniku VPtest.

Uwaga:

- Zestaw przeznaczony jest do profesjonalnego zastosowania

Przestrzegaj zasad pracy z materiałem zakaźnym!

Izolowanie kultury:

- Izolowanie bakterii powinno zostać przeprowadzone tradycyjną techniką bakteriologiczną na agarze krwawym (Columbia agar, agar krwawy nr 4)
- Należy ocenić morfologię czystej kultury, aktywność hemolityczną na agarze krwawym, oraz przeprowadzić test wykrywający aktywność pyrrolidonylarylamidazy (test PYR, test paskowy PYRAtest), ewentualnie inne testy potwierdzające obecność antygeny grupowego (A, B, C, D, F, G); wyniki odnotować w arkuszu.

Uwaga:

- paciorkowce z grupy „Viridans” oraz *S. pneumoniae* inkubować w 5% CO₂
- do identyfikacji paciorkowców kałowych przeznaczony jest zestaw MIKRO-LA-TEST® EN-COCCUStest
- dla β-hemolizujących paciorkowców (paciorkowców z dużymi koloniami) obecność grupowego antygeny jest podstawową informacją, w przypadku *S.pneumoniae* podstawową cechą jest wrażliwość na optochinę oraz rozpuszczalność w żołączy

Przygotowanie inokulumu:

- Sporządzić zawiesinę bakteryjną w roztworze soli fizjologicznej z czystej, 24-godzinnej hodowli, zawiesinę dokładnie wstrząsnąć.
- Zawiesina powinna wykazywać zmętnienie równe 3 w skali zmętnienia McFarlanda.

Uwaga: W celu uzyskania wymaganej gęstości, zalecane jest wykorzystanie wacików do pobierania podczas przygotowania zawiesiny.

Kontrola czystości hodowli:

- W przypadku potwierdzenia czystości zawiesiny należy przeprowadzić tą samą eżę, z pomocą której przygotowano zawiesinę, wysiew krzyżowy. Inkubować w temp. 37°C przez 24 godziny.

Przygotowanie panelu zestawu STREPTOtest 16:

- 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 (2 rzędy, tj. 16 studzienek do identyfikacji jednego szczepu).
- Odcięte paski należy wyjąć z panelu, zdjąć ochronną ALU folię, paski włożyć do przygotowanej 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:

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

Inokulacja:

- Zhomogenizować dokładnie zawiesinę.
- Wykonać posiew 0,1 ml zawiesiny do wszystkich 8 studzienek pierwszego rzędu paska (kolumny H-A pierwszego rzędu, tj. testy od HIP do URE).
- Pipetować 1 ml zawiesiny do objętości fiolki z nośnikiem zawiesiny dla STREPTOtest 16 (1 ml)
- Zhomogenizować dokładnie rozcieńczoną zawiesinę.
- Wykonać posiew 0,1 ml rozcieńczonej zawiesiny do pozostałych 8 studzienek drugiego rzędu paska (kolumny H–A drugiego rzędu, tj. testy od MAN do RIB).
- Podczas inokulacji należy uważać, żeby nie doszło do kontaminacji sąsiednich studzienek
- Po posiewie dodać olej parafinowy (2 krople) do następujących studzienek:
 - 1 rząd, studzienki B oraz A (testy ARG oraz URE)
- Do pozostałej ilości zawiesiny (1ml zawiesiny) w probówce włożyć pasek testowy VP (pole testowe paska powinno być całkowicie zanurzone w zawiesinie) oraz zamknąć probówkę korkiem.

Uwaga: Pokrywa ramki płytki zawiera nadruk skrótów testów i symboli:

- (zakropić olejem parafinowym) i ◊ (dodać odczynnik).

W przypadku wykorzystywania pokrywy w trakcie pracy do nakrycia płytki, należy przed zastosowaniem wewnętrzną stronę pokrywy zdezynfekować etanolem.

Uwaga:

Do każdej serii nieznanymi szczepów oraz podczas zastosowania nowej serii płytek STREPTOtest 16 należy jednocześnie zastosować szczepy kontrolne celem sprawdzenia wyrażenia barw reakcji dodatnich i ujemnych.

Inkubacja:

- Umieścić ramkę z paskami w torebce z polietylenu.
- Założyć otwarty brzeg torebki pod płytkę, aby uniknąć wysychania podczas inkubacji.
- Inkubować STREPTOtest 16 oraz probówkę z VPtest w cieplarni w temp. 35–37°C, VPtest inkubować 2 godz., płytkę STREPTOtest 16 inkubować 24 godz.

Odczyt, ocena:

- Po 2 godz. inkubacji należy oceniać reakcję w probówce z VPtestem, jednak najpierw należy do próbki dodać 3 krople odczynnika do VPT I oraz 3 krople odczynnika do VPT II i następnie zawartość próbki dokładnie zhomogenizować oraz inkubować przez kolejne 30 minut w temp. 35–37°C. Po upływie 30 minut należy odczytać reakcję VPtest.
- Po 24 godz. inkubacji należy dodać odczynniki do następujących studzienek STREPTOtest 16:
 - 1 rząd, studzienka H (HIPPURAT test) – 2 krople Odczynnika do HIP,
 - 1 rząd, studzienka G (FOSTATAZA test) – 1 kropla Odczynnika do PHS,
- Następnie należy płytkę inkubować przez 5-10 minut w temperaturze laboratorium celem prawidłowego rozwoju reakcji barwnych.
- Odczytać wyniki wszystkich testów i zapisać wyniki na arkuszu.

Uwaga:

- Do odczytu reakcji barwnych można zastosować tabelę Porównawczą skalę barw dla STREPTOtest 16, „Interpretacja reakcji”, i/lub wyniki reakcji barwnych szczepów kontrolnych.
- Testy LAP, GLR, aGA najlepiej odczytać na białym tle.
- Test HIP należy interpretować do 10 min od chwili dodania odczynnika, po przekroczeniu czasu mogą pojawić się fałszywie dodatnie wyniki.

Identyfikacja:

- Przy identyfikacji należy korzystać z „Tabeli identyfikacyjnej” lub „Książki kodów” (zalecane), odp. przeprowadzić identyfikację w komputerze stosując program identyfikacyjny ErbaExpert (zalecane)
- Podczas identyfikacji należy uwzględnić wszystkie wyniki łącznie z dodatkowymi dostępnymi cechami charakterystycznymi, takimi jak grupa serologiczna, pochodzenie izolowanego szczepu, hemoliza, charakter kolonii, badanie mikroskopowe itd.
- W razie niepowodzenia w identyfikacji bakterii powtórzyć STREPTOtest 16 i identyfikację uzupełnić kolejnymi testami; ewentualnie wysłać izolat do narodowego laboratorium referencyjnego dla rodzajów Streptococcus i Enterococcus.

Usuwanie wykorzystanych materiałów:

- Po zużyciu płytki należy włożyć do pojemnika z materiałem zakaźnym, autoklawować lub spalić.
- Papierowe oraz tekturowe opakowania należy przekazać do recyklingu.

Najczęstsze przyczyny niepowodzenia identyfikacji:

- Zanieczyszczona kultura.
- Zastosowano inokulum o niskiej gęstości lub za małą ilość inokulum.
- Inokulum zanieczyściło sąsiadujące paski.
- Odpowiednie testy nie zostały pokryte warstwą oleju parafinowego.
- Odczynnik wdroplono do sąsiedniej studzienki.
- Nieprzestrzeganie kolejnych etapów zalecanej procedury.
- Możliwa obecność szczepu nietypowego lub szczepu, który nie został wymieniony w „Tabeli różnicującej“.

Właściwości zestawu:

Zestaw został przetestowany z pomocą 60 klinicznie istotnych szczepów. Więcej niż 90% zidentyfikowano prawidłowo.

Kontrola jakości STREPTOtest 16:

Jakość chemikaliów stosowanych do produkcji płytek STREPTOtest 16 sprawdzana jest przy użyciu standardowego sposobu testowania. Wyprodukowane partie płytek sprawdzane są także za pomocą standardowych referencyjnych kultur bakteryjnych. Do pracy z płytkami STREPTOtest 16 w Państwa laboratorium zalecamy zastosowanie szczepów kontrolnych wymienionych w tabeli (patrz poniżej). 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!**

CCM No.	Rząd 1									Rząd 2						
	H HIP	G PHS	F LAP	E GLR	D aGA	C ESL	B ARG	A URE	H MAN	G SOR	F TRE	E LAC	D RAF	C INU	B MLB	A RIB
4043	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
4617	+	-	+	+	-	+	s	-	+	+	+	+	-	s	-	s
1911	+	-	-	-	+	s	-	-	+	-	-	-	+	-	s	s

Objaśnienia:

+ = reakcja dodatnia - = reakcja ujemna s = słabo dodatnia reakcja

- Streptococcus constellatus subsp. constellatus* CCM 4043
- Streptococcus uberis* CCM 4617
- Aerococcus viridans* CCM 1911 (ATCC 29503)

Ww. szczepy dostarczane są w liofilizowanych ampułkach lub na krążkach żelatynowych 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

Uwaga:

W celu kontroli dodatniej reakcji w teście URE można wykorzystać szczep *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticum* CCM 4296

Ochrona zdrowia:

Odczynniki zestawu nie są klasyfikowane jako niebezpieczne..

INTERPRETACJA REAKCJI

Kolumna	Test	Skrót	dodatnia	Reakcja	ujemna
Rząd 1					
H	Hippurat	HIP	Niebieska	Bezbarwna, bladoniebieskawa	
G	Fosfataza	PHS	Czerwono-fioletowa, czerwona	Bezbarwna, bladoniebieskawa	
F	Aminopeptydaza leucynowa	LAP	Żółta	Bezbarwna	
E	B-glukuronidaza	GLR	Żółta	Bezbarwna	
D	A-galaktozydaza	aGA	Żółta	Bezbarwna	
C	Eskulina	ESL	Czarna, ciemno-brązowa	Bezbarwna, bladobrązowa	
B	Arginina	ARG	Czerwono-fioletowa, czerwona	Żółta, bladopomarańczowa	
A	Ureaza	URE	Czerwona, czerwono-pomarańczowa	Żółta, bladopomarańczowa	
Rząd 2					
H	Mannitol	MAN	Żółta, żółto-pomarańczowa	Czerwona, pomarańczowo-czerwona	
G	Sorbitol	SOR	Żółta, żółto-pomarańczowa	Czerwona, pomarańczowo-czerwona	
F	Trehaloza	TRE	Żółta, żółto-pomarańczowa	Czerwona, pomarańczowo-czerwona	
E	Laktoza	LAC	Żółta, żółto-pomarańczowa	Czerwona, pomarańczowo-czerwona	
D	Raffinoza	RAF	Żółta, żółto-pomarańczowa	Czerwona, pomarańczowo-czerwona	
C	Inulin	INU	Żółta, żółto-pomarańczowa	Czerwona, pomarańczowo-czerwona	
B	Mellibioza	MLB	Żółta, żółto-pomarańczowa	Czerwona, pomarańczowo-czerwona	
A	Riboza	RIB	Żółta, żółto-pomarańczowa	Czerwona, pomarańczowo-czerwona	

Producent: 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.tvrdon@erbamannheim.com, diagnostics@erbamannheim.com, web: www.erbalachema.com.

