

## SÚHRN A VYSVETLENIE

ST 16 je štandardizovaný identifikačný systém pre bežnú druhovú identifikáciu stafylokokov, ktorý využíva 16 miniaturizovaných biochemických testov a internetové databázy. Na konci návodu je uvedený kompletný zoznam všetkých mikroorganizmov, pre ktoré je súprava určená.

## PRINCÍP

Súprava ST 16 pozostáva zo 16 jamiek dvojstripu mikrotitračnej doštičky v klasickom 96 jamkovom formáte obsahujúcich dehydratované substráty. Rekonštitúcia substrátov prebieha inokuláciou bakteriálnej suspenzie. V priebehu inkubácie dochádza v dôsledku metabolickej aktivity mikroorganizmov k farebným zmenám v jednotlivých jamkách. Odčítanie výsledkov testov prebieha vizuálne na základe farebnej stupnice alebo farebného vyjadrenia popísaného v pracovnom návode. Výsledky identifikácie sa odčítajú z vyhodnocovacej tabuľky alebo za pomoci vyhodnocovacieho softwaru.

## OBSAH SÚPRAVY - 60 TESTOV

- 10 mikrotitračných doštičiek
- 60 výsledkových formulárov
- 10 inkubačných vrecúšok
- 1 príbalový leták

## POTREBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ ČINIDLÁ A MATERIÁL

### Činidlá:

- NaCl 0.85 % 3,5 - 5 ml
- Parafínový olej (Ref. 3001 )
- NIT reagent (Ref. 3005 )
- VP a VP reagent (Ref. 2004 a 3004)
- PYR a PYR reagent (Ref. 2003 a 3003)
- Identifikačný software (na stránkach spoločnosti)

### Materiál:

- Pipety
- Tampóny, kľučky, kahan, skúmavky a ďalšie základné vybavenie mikrobiologického laboratória

## VAROVANIE A OPATRENIA

### • Len na diagnostické použitie *in vitro* a na mikrobiologickú kontrolu

- **Len na profesionálne použitie.**
- Dodržujte presne pracovný návod!
- Všetky vzorky a inokulované produkty sa musia považovať za potenciálne infekčné a je nutné rešpektovať pri manipulácii s nimi obvyklé bezpečnostné opatrenia podľa predpisov platných v danej krajine.
  - Nepoužívajte produkt po dátume expirácie.
  - Pred použitím skontrolujte, či je obal nepoškodený. Poškodené súpravy nepoužívajte.

Pri interpretácii výsledkov je nutné vziať do úvahy anamnézu pacienta, zdroj vzorky, morfológiu kolónie, mikroskopickú morfológiu kmeňa a pokiaľ je to nevyhnutné, výsledky všetkých ďalších vykonaných testov, predovšetkým výsledky antibiogramu.

## PODMIENKY SKLADOVANIA

Diagnostické súpravy sa dodávajú vo viacvrstvových vrecúškach na báze hliníka a organických polymérov. Súčasťou každého vrecúška je dodatkové silikagélové sušidlo. Uchovávajte súpravy pri teplote +2 až +25°C.

Exspirácia je uvedená na každom balení.

Po otvorení uložte nepoužitý zbytok mikrotitračnej doštičky do priloženého hliníkového vrecúška vrátane originálneho silikagélového sušidla, vrecúško starostlivo uzavrite a uložte do chladničky. Takto je možné skladovať produkt po dobu 2 týždňov (alebo do dátumu expirácie v prípade, že nastane skôr).

## VZORKY

Mikroorganizmy, ktoré majú byť identifikované izolujte z vhodného neselektívneho kultivačného média (napr. krvný agar, tryptón sójový agar apod.) podľa štandardných mikrobiologických techník.

Z čistej kultúry vykonajte Gramovo farbenie a mikroskopiu. Vykonajte test dôkazu katalázy – CAT.

Konfirmované izoláty identifikujte súpravou ST 16.

## PRACOVNÝ POSTUP

### Príprava inokula

- Otvorte skúmavku fyziologického roztoku alebo použite akýkoľvek sterilný 0,85% roztok chloridu sodného.
- Bakteriologickou kľučkou alebo tampónom naberte z čistej a dobre narastenej 18 - 24 hod. kultúry niekoľko dobre izolovaných kolónií.
- Zákal riadne homogenizovanej suspenzie musí zodpovedať hustote zákalu 2 McF. Táto suspenzia sa musí použiť ihneď po príprave.

TIP: V prípade potreby overte čistotu inokula krížovým rozterom tou istou kľučkou alebo tampónom, ktorým ste pripravovali suspenziu.

**Takto pripravená Petriho miska môže slúžiť na vykonanie doplnkových testov nasledujúci deň !**

### Príprava dvojstripu

- Pripravte si prázdny rámček mikrotitračnej doštičky a umiestnite doňho potrebný počet stripov.
- Zaznamenejte na stripy čísla vyšetřovaných kultúr

TIP: V prípade prvého použitia súpravy vyberte zostatkové stripy a vložte ich do hliníkového vrecúška so sušidlom a starostlivo uzavrite. Pre ďalšie použitie si ponechajte rámček mikrotitračnej doštičky.

### Inokulácia

- Inokulujte 0,1 ml riadne homogenizovanej suspenzie do každej jamky stripu.
- Testy URE až ORN (jamky H až F) prekryte 2 - 3 kvapkami parafínového oleja.

### Inkubácia

- Vložte rámček s inokulovanými stripmi do priloženého PE sáčku, ktorého koniec zahnite pod doštičku – zabránite tým vysychaniu bakteriálnej suspenzie.
- Inkubujte pri bežnej atmosfére a teplote 35 ± 2 °C po dobu 18 - 24 hodín.

TIP: pre optimálny priebeh inkubácie zaistite v inkubátore vyššiu vlhkosť vložení napr. kadičky s čistou vodou alebo prevádzajte inkubáciu pri riadenej úrovni vlhkosti.

## HODNOTENIE A INTERPRETÁCIA

Po dobe inkubácie testovací strip odčítajte za pomoci odčítacej tabuľky, farebnej stupnice alebo výsledkov kontrolných kmeňov.

Test bGA (NIT) je bifunkčný a po odčítaní primárnej reakcie je možné získať zakvapkaním príslušnými činidlami druhý výsledok z už odčítanej jamky mikrotitračnej doštičky.

- **bGA / NIT** – prikvapnite 2 – 3 kapky NIT – reagentu a počkajte 1 – 2 minúty na vyfarbenie testu.
- Zapište výsledok bifunkčného testu do formulára pre odčítanie výsledkov alebo do vyhodnocovacieho softwaru

## IDENTIFIKÁCIA

Výsledok identifikácie sa získa pomocou:

- identifikačnej tabuľky
- identifikačného softwaru

## Identifikácia pomocou identifikačnej tabuľky:

Porovnajte výsledky testov a vykonajte vyhodnotenie podľa výsledkov testov uvedených v tomto návode na strane 4.

## Identifikácia pomocou identifikačného softwaru:

Zadajte výsledky jednotlivých testov.

V prípade, že sa nedá niektorý z testov hodnotiť je možné ho v programe vynechať. Software umožňuje vkladanie dodatkových testov a tým i zvýšenie identifikačnej účinnosti. Software microID je pre zákazníkov voľne k dispozícii na stránkach spoločnosti.

## KONTROLA KVALITY

Kvalita vyrábaných diagnostických súprav sa systematicky kontroluje. Chemikálie sú nakupované jedine od certifikovaných firiem a kvalita týchto chemikálií je overená doloženým analytickým certifikátom. Funkčnosť súprav je okrem iného testovaná na kontrolných zbierkových kmeňoch, kontrolovaná a testovaná je tiež prítomnosť bakteriálnej kontaminácie. Súpravy sú podrobené záťažovým testom pri zvýšenej teplote a z každej šarže sú ukladané referenčné vzorky pre správne posúdenie prípadných neskorších reklamácií.

## PRE POTREBU VLASTNÉHO OVERENIA FUNKČNOSTI SÚPRAVY ODPORÚČAME POUŽIŤ NASLEDUJÚCE KONTROLNÉ KMENE:

<i>Enterococcus faecalis</i>	CCM 4224 / ATCC 29212	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	ARG	ORN	ESL	GLR	bGL	NAG	bGA	NIT
		-	+	-	+	-	+	+	-	-
		SUC	TRE	MAN	MLT	SOR	RAF	RIB	XYL	
		+	+	+	+	+	-	+	-	

<i>Staphylococcus aureus</i>	CCM 3953 / ATCC 25923	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	ARG	ORN	ESL	GLR	bGL	NAG	bGA	NIT
		+	+	-	-	-	+	-	-	+
		SUC	TRE	MAN	MLT	SOR	RAF	RIB	XYL	
		+	+	+	+	-	-	-	-	

<i>Staphylococcus cohnii</i> ssp. <i>urealyticus</i>	CCM 4296 / ATCC 49331	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	ARG	ORN	ESL	GLR	bGL	NAG	bGA	NIT
		+	-	-	-	+	-	-	+	+
		SUC	TRE	MAN	MLT	SOR	RAF	RIB	XYL	
		-	+	+	-	-	-	-	-	

<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>pneumoniae</i>	CCM 4 5852 / ATCC 13882	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
		URE	ARG	ORN	ESL	GLR	bGL	NAG	bGA	NIT
		+	-	-	+	-	v	v	+	+
		SUC	TRE	MAN	MLT	SOR	RAF	RIB	XYL	
		+	+	+	+	+	+	+	+	

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

CCM: Czech Collection of Microorganism, Masaryk University Brno, Tvrdeho 14, 60200 Brno, tel. +420549491430, e – mail: [ccm@sci.muni.cz](mailto:ccm@sci.muni.cz)

Profily získané po 24 hodinách inkubácie po kultivácii na krvnom alebo tryptón sójovom agare.

Kontrolné kmene slúžia len na overenie funkčnosti jednotlivých testov, nie na kontrolu správnosti identifikácie.

## ODČÍTACIA TABUĽKA

STĽ.	TEST	SKRATKA TESTU	REAKCIA	
			POZITÍVNA	NEGATÍVNA
1. riadok				
H	Ureáza	URE	červená, červenooranžová	žltá, svetlo oranžová
G	Arginín	ARG	Ružová, červená	Žltá, oranžová
F	Ornitín	ORN	modrá, modrozelená	zelená, žltozelená
E	Eskulín	ESL	hnedá, čierna	krémová
D	Glukuronidáza	GLR	žltá	bezfarbá
C	Glukosidáza	bGL	žltá	bezfarbá
B	N-acetyl - Glukosid	NAG	žltá	bezfarbá
A	b-galaktosidáza	bGA	žltá	bezfarebná
A'	Nitráty	NIT	ružová	bezfarbá
2. riadok				
H	Sacharóza	SUC	žltá, žltozelená	zelená
G	Trehalóza	TRE	žltá, žltozelená	zelená
F	Mannitol	MAN	žltá, žltozelená	zelená
E	Maltosa	MLT	žltá, žltozelená	zelená
D	Sorbitol	SOR	Žltá, žltozelená	zelená
C	Rafinosa	RAF	žltá, žltozelená	zelená
B	Ribosa	RIB	žltá, žltozelená	zelená
A	Xylosa	XYL	žltá, žltozelená	zelená

**OBMEDZENIA METÓDY A NAJČASTEJŠIE PRÍČINY NEÚSPECHU IDENTIFIKÁCIE**

- Diagnostická ST 16 je určená len na identifikáciu baktérií uvedených v tomto návode.
- Možno použiť len čistú kultúru vyšetřovaného mikroorganizmu.
- Testy neboli prevrstvené parafínovým olejom.
- Kontaminácia jamiek inokulom z ďalšieho stripu.
- Jedná sa o atypický kmeň.
- Nedodržanie niektorého bodu pracovného návodu.

**CHARAKTERISTIKY STANOVENIA**

Bolo testovaných 62 zbierkových kmeňov a kmeňov klinického pôvodu, patriacich k druhom zahrnutým v databáze:

- 91,9 % bakteriálnych kmeňov bolo správne identifikovaných do rodu.
- 88,7 % bakteriálnych kmeňov bolo správne identifikovaných do druhu.

**LIKVIDÁCIA ODPADU**

S materiálom zaobchádzajte ako s potenciálne infekčným agens. Odpad likvidujte podľa interných operačných postupov a smerníc v súlade s legislatívou svojej krajiny.

Identifikačná tabuľka	1. riadok									2. riadok								
	H	G	F	E	D	C	B	A	A'	H	G	F	E	D	C	B	A	
	URE	ARG	ORN	ESL	GLR	BGL	MAG	BGA	NIT	SUC	TRE	MAN	MLT	SOR	RAF	RIB	XYL	
<i>Dermatococcus nishinomiyaensis</i>	v	-	-	-	-	-	-	-	v	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Kocuria kristinae</i>	-	-	-	(-)	-	+	-	(-)	-	+	-	-	+	(-)	-	-	-	
<i>Kocuria rosea</i>	-	-	-	-	(-)	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	(-)	
<i>Kocuria varians</i>	(+)	-	-	-	-	-	-	(-)	(+)	(-)	-	-	(-)	-	-	-	(-)	
<i>Kytococcus sedentarius</i>	-	v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Macrococcus bovicus</i>	(-)	-	-	-	-	v	-	-	-	(-)	v	+	(+)	-	-	-	-	
<i>Macrococcus carouleselicus</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	(+)	+	v	-	-	-	-	-	
<i>Macrococcus caseolyticus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	v	+	-	+	-	-	(+)	-	
<i>Macrococcus equiperficus</i>	(+)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	v	+	(+)	-	-	-	-	
<i>Micrococcus sp.</i>	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus arlettae</i>	-	-	-	v	+	-	-	v	-	+	+	+	+	-	+	+	+	
<i>Staphylococcus auricularis</i>	-	v	-	-	-	-	-	(-)	+	v	+	-	(+)	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus cap. ssp. ureolyticus</i>	+	+	-	-	-	-	-	(-)	+	+	-	+	+	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus capitis ssp. capitis</i>	-	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	v	-	+	-	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus caprae</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	(-)	+	+	+	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus carnosus ssp. carnosus</i>	-	+	-	-	-	-	v	+	+	-	(-)	(+)	-	+	-	-	-	
<i>Staphylococcus carnosus ssp. utilis</i>	-	+	-	-	-	-	+	-	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus cohnii ssp. urealyticum</i>	+	-	-	(-)	+	v	v	v	(-)	-	+	+	(+)	(-)	-	-	-	
<i>Staphylococcus cohnii ssp. cohnii</i>	-	-	-	-	(-)	-	(-)	-	-	-	+	v	(+)	(-)	-	-	-	
<i>Staphylococcus condimentii</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+	v	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	v	-	-	-	v	-	(-)	+	+	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus equorum</i>	+	-	-	+	+	+	v	v	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
<i>Staphylococcus felis</i>	+	+	-	-	-	-	-	(+)	+	(+)	+	(+)	-	-	-	(-)	-	
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	+	-	-	+	(+)	+	+	v	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-	+	-	-	(-)	v	+	(-)	+	+	+	v	+	(-)	-	(-)	-	
<i>Staphylococcus hominis ssp. novobiosepticus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	(-)	-	
<i>Staphylococcus hominis ssp. hominis</i>	+	(-)	-	-	-	-	(+)	-	+	+	(+)	(-)	+	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus hyicus</i>	v	+	-	-	(+)	v	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+	+	-	-	-	-	(-)	(-)	+	+	+	(-)	v	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus klosii</i>	v	-	-	+	v	(-)	-	v	-	-	+	+	+	-	(-)	+	(-)	
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	v	-	+	-	-	(+)	+	(-)	+	+	+	+	+	(-)	-	-	-	
<i>Staphylococcus muscae</i>	-	-	-	-	-	-	(-)	-	+	+	+	-	-	(-)	-	-	+	
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	+	(+)	-	-	+	+	-	-	(+)	+	+	(+)	(+)	+	-	-	-	
<i>Staphylococcus petrasii ssp. croceilyticus</i>	+	+	-	-	+	v	-	-	(+)	+	+	-	+	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus petrasii ssp. petrasii</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus petrasii ssp. pragensis</i>	-	-	-	-	v	v	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus petrasii ssp. jettensis</i>	-	+	-	-	v	v	-	-	+	+	+	v	+	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus piscifermentas</i>	+	+	-	+	-	+	v	-	+	v	+	(-)	v	(-)	-	(-)	-	
<i>Staphylococcus saprophyticus ssp. saprophyticus</i>	+	-	-	-	-	(-)	(+)	(+)	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus saprophyticus ssp. bovis</i>	+	-	-	-	(-)	(-)	+	v	+	(+)	+	+	+	-	-	+	-	
<i>Staphylococcus sciuri ssp. carnaticus</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	(+)	-	+	+	
<i>Staphylococcus sciuri ssp. lentus</i>	-	-	-	+	-	+	(+)	v	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	+	v	
<i>Staphylococcus sciuri ssp. rodentium</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	(+)	v	-	+	(-)	
<i>Staphylococcus sciuri ssp. sciuri</i>	-	-	-	+	v	+	-	-	+	+	+	v	(+)	-	+	(-)	-	
<i>Staphylococcus schleiferi ssp. schleiferi</i>	-	(+)	-	-	-	+	+	v	+	-	(+)	-	(-)	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus simulans</i>	+	+	-	-	v	-	+	+	+	+	+	(+)	(-)	(+)	-	v	-	
<i>Staphylococcus vitulinus</i>	-	-	-	(+)	-	(+)	-	-	+	+	v	+	-	v	-	+	(+)	
<i>Staphylococcus warneri</i>	+	v	-	-	(+)	+	-	(-)	(-)	+	+	v	+	-	-	v	-	
<i>Staphylococcus xylosus</i>	+	-	-	(-)	+	+	0.9	(+)	(+)	+	+	+	+	-	-	v	+	

Vysvetlivky: + = 90 – 99 %; (+) = 66 – 89 %; v = 34 – 65 %; (-) = 11 – 33 %; - = 1 – 10%