

SÚHRN A VYSVETLENIE

Diagnostická súprava YST 8 je štandardizovaný identifikačný systém pre bežnú druhovú identifikáciu klinicky významných kvasiniek ktorý využíva 8 miniaturizovaných biochemických testov. Na konci návodu je uvedený kompletný zoznam všetkých mikroorganizmov, pre ktoré je súprava určená.

PRINCÍP

Súprava YST 8 pozostáva z 8 jamiek monostripu 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. Odpočet výsledkov testov prebieha vizuálne na základe farebnej stupnice. Výsledky identifikácie sa odčítajú z vyhodnocovacej tabuľky s prehľadom profilov.

OBSAH SÚPRAVY

- 5 mikrotitračných doštičiek YST 8
- 60 výsledkových formulárov
- 5 inkubačných sáčkov
- 1 príbalový leták

POTREBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ ČINIDLÁ A MATERIÁL

Činidlá:

- Parafínový olej (Ref. 3001)
- PHE reagent (Ref. 3007)

Materiál :

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

VAROVANIA A OPATRENIA

- **Len pre diagnostické použitie *in vitro* a na mikrobiologickú kontrolu.**
- **Len pre profesionálne použitie.**
- Dodržujte presne pracovný návod!
- Akékoľvek vzorky a inokulované produkty sa musia považovať za potenciálne infekčné a je treba rešpektovať pri manipulácii s nimi obvyklé bezpečnostné opatrenia podľa predpisov platných v každej zemi.
- 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 a mikroskopickú morfológiu kmeňa a, pokiaľ je to nevyhnutné, výsledky všetkých ďalších vykonaných testov, obzvlášť výsledky antibiogramu.

PODMIENKY SKLADOVANIA

Diagnostické súpravy sa dodávajú vo viacvrstvových sáčkoch na báze hliníka, polyamidu a PE. Súčasťou každého sáčku je silikagelové sušidlo. Uchovávajte súpravy pri teplote $+2$ až $+25^{\circ}\text{C}$. Exspirácia je uvedená na každom balení.

Po otvorení uložte nepoužitý zvyšok mikrotitračnej doštičky do hliníkového sáčku vr. originálneho silikagelového sušidla, sáčok starostlivo uzavriete a uložte pri laboratórnej teplote. Takto možno 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 (Sabouraudov agar) podľa štandardných mikrobiologických techník. Posúďte čistotu a morfológiu mikrobiálnej kultúry.

PRACOVNÝ POSTUP

Príprava inokula

- Použite akýkoľvek sterilný nepufrovaný vytemperovaný fyziologický roztok.
- Bakteriologickou kľučkou alebo tampónom naberte z čistej 18 – 48 hod. kultúry niekoľko dobre izolovaných kolónií.
- Zákal riadne homogenizovanej suspenzie musí zodpovedať 3-5 McF. Táto suspenzia sa musí použiť hneď po príprave.

Inokulácia

- Zaznamenajte na stripy čísla vyšetrovaných kultúr
- Inokulujte 0,1 ml riadnej homogenizovanej suspenzie do každej jamky monostripu.
- Testy URE až RAF (jamka H až E) prekryte 3 kvapkami parafínového oleja.

Inkubace

- Vložte rámček s inokulovanými stripmi do priloženého PE sáčku ktorého koniec zahnite pod doštičku – zabránite tým vysychaniu bakteriálnej suspenzie.
- Inkubujte aeróbne pri teplote $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodín.

HODNOTENIE A INTERPRETÁCIA

Po dobe inkubácie testovací strip odčítajte pomocou odčítacej tabuľky, farebné stupnice alebo výsledkov kontrolných kmeňov.

Test bGL / PHE - je bifunkčný, po odčítaní bGL, môžeme získať ďalší výsledok z rovnakej jamky.

Jamka A: bGL / PHE - pridajte jednu kvapku PHE reagentu a vyhodnoťte

Do výsledkového formulára zaznamenajte výsledky testov.

IDENTIFIKÁCIA

Výsledok identifikácie sa získa pomocou:

- identifikačnej tabuľky
- vyhodnocovacieho softwaru ID micro

Identifikácia pomocou identifikačnej tabuľky:

Porovnajte výsledky testov a urobte vyhodnotenie podľa výsledkov testov uvedených v tomto návode na strane 2.

Identifikácia pomocou vyhodnocovacieho softwaru:

Vložte výsledky stanovení do identifikačného softwaru IDmicro a vyhodnoťte.

KONTROLA KVALITY

Kvalita vyrábaných diagnostických súprav sa systematicky kontroluje. Chemikálie sú nakupované len od ISO 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 mikrobiálnej kontaminácie. Súpravy sú podrobované záťažovým testom pri zvýšenej teplote a z každej šarže sú ukladané referenčné vzorky pre správne posúdenie prípadných neskorších reklamácií.

OBMEDZENIE METÓDY A PRÍČINY NEÚSPECHU IDENTIFIKÁCIE

- Nedodržanie niektorého bodu pracovného návodu
- Kontaminácia jamiek inokulom z ďalšieho stripu
- Jedná sa o atypický kmeň

CHARAKTERISTIKY STANOVENIA

Bolo testovaných celkom 150 kmeňov kvasiniek zbierkových alebo klinického pôvodu patriacich k druhom zahrnutým v databáze:

Interné testovanie:

- 90% kmeňov bolo správne identifikovaných (s doplnkovými testami alebo bez nich).

- 10 % kmeňov nebolo identifikovaných.

- 0 % bolo identifikovaných nesprávne.

Nezávislé testovanie:

- 94 % kmeňov bolo správne identifikovaných (s doplnkovými testami alebo bez nich).

- 6 % kmeňov nebolo identifikovaných.

- 0 % bolo identifikovaných nesprávne.

LIKVIDÁCIA ODPADU

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

PRE POTREBU VLASTNÉHO OVERENIA FUNKČNOSTI SÚPRAVY DOPORUČUJEME POUŽIŤ NASLEDUJÚCE KONTROLNÉ KMENE:

Kontrolný kmeň	CCM	ATCC	URE	SUC	TRE	RAF	bGA	NAG	PRO	bGL	PHE
<i>Candida albicans</i>	8226	2091	-	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	8312	90112	+	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8191	9763	-	+	+	+	-	-	-	-	-

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

CCM: Česká zbierka mikroorganizmov, Masarykova univerzita Brno, Kamenice 5, 625 00 Brno, ČR, tel. +420549491430, e-mail: ccm@sci.muni.cz

Profily získané po 18 až 24 hodinách inkubácie po kultivácii na Sabouraudovom agare. Kontrolné kmene slúžia len k overeniu funkčnosti jednotlivých testov, nie pre kontrolu správnosti identifikácie.

ODČÍTACIA TABUĽKA

JAMKA	SKRATKA TESTU	NÁZOV TESTU	VÝSLEDKY	
			POZITÍVNE	NEGATÍVNE
H	URE	Urea	červená/červenooranžová	žltá/žltooranžová
G	SUC	Sacharóza	žltá/žltozelená	zelená
F	TRE	Trehalóza	žltá/žltozelená	zelená
E	RAF	Rafinóza	žltá/žltozelená	zelená
D	bGA	β -galaktozidáza	žltá/nažltlá	zákal suspenzie
C	NAG	N-acetylglukózamín	žltá/nažltlá	zákal suspenzie
B	PRO	Prolín	žltá/nažltlá	zákal suspenzie
A	bGL	β -glukozidáza	žltá/nažltlá	zákal suspenzie
A'	PHE	Fenylalanín deamináza	tmavozelená	žltá

Identifikačná tabuľka a zoznam profilov:

Názov kmeňa	URE	SUC	TRE	RAF	bGA	NAG	PRO	bGL	PHE	mikroskopické znaky			
										HYP	PSH	GET	
<i>Candida albicans</i>	-	+	v	-	-	+	+	(-)	-	-	+	+	
<i>Candida dubliniensis</i>	-	+	+	-	-	+	+	-	(+)	-	+	+	
<i>Candida glabrata</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Candida guilliermondii</i>	-	+	(-)	+	-	-	+	+	-	-	+	-	
<i>Candida kefyr</i>	-	+	-	+	+	-	-	(+)	-	-	+	-	
<i>Candida krusei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
<i>Candida lipolytica</i>	+	-	-	-	-	-	+	v	+	-	+	-	
<i>Candida lusitanae</i>	-	+	v	-	-	-	+	+	-	-	+	-	
<i>Candida parapsilosis</i>	-	v	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	
<i>Candida tropicalis</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	+	-	-	-	-	v	-	+	-	-	-	-	
<i>Geotrichum sp.</i>	-	-	-	v	-	v	(-)	-	v	+	-	-	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	+	v	+	-	-	-	-	-	-	(-)	-	
<i>Trichosporon asahii</i>	+	-	-	-	-	+	-	+	(+)	+	-	-	
<i>Trichosporon mucoides</i>	+	+	-	v	+	+	+	+	-	+	-	-	

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

GET – Germ tubes test, PSH – pseudomycélium, HYP – tvorba hyf