



INDEX, ÍNDICE,EYPETHPIO	
1-12	ENGLISH
13-23	ESPAÑOL
24-35	ITALIANO
36-46	DEUTSCHE
47-58	ΕΛΛΗΝΙΚΟ
59- 69	POLSKI
70-71	SYMBOLS SIMBOLOS SIMBOLI SYMBOL SYMBOLES ΣΥΜΒΟΛΟ SIMBOLIS SYMBOLY



GPID IDENTIFICATION PLATE FOR GRAM POSITIVE ORGANISMS

SENSITITRE® 18-24 hour

For *in vitro* Diagnostic Use

For full plate information including plate layout and QC information refer to www.trekds.com/techinfo. The plate code and batch number will be required.

INTENDED USE

The Sensititre® GPID plate is an *in vitro* diagnostic product for the automated identification of Gram positive bacteria.

SUMMARY AND PRINCIPLES OF USE

Each GPID plate contains three sections, each containing 32 dried biochemical tests. The tests include classical biochemical media reformulated for fluorometric reading, and tests using fluorogenic substrates. Plates are incubated at 34-36°C and should be read after 18 or 24 hours on the Sensititre® AutoReader®/Optiread® or ARIS® for the presence or absence of fluorescence. Data is analyzed by software for reporting. Only instruments supported by Sensititre i.e. a simple mirror viewer, Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader®, Optiread® and ARIS® must be used to report results with CE IVD and FDA cleared Sensititre products, any other system used will not be supported.

GPID Plate Layout

	1	2	3	4
A	<u>Urea*</u> (13g/L)	Esculin (0.02g/L)	Arginine (10g/L)	β-D Galactopyranoside MU (0.1g/L) FR13
B	β-D-Ribofuranoside MU (0.11g/L) FR16	Rhamnose (9g/L)	Alanine AMC (0.04g/L) FR15	Mannitol (9g/L)
C	β-D Glucopyranoside MU (0.1g/L) FR 14	Trehalose (9g/L)	D-Alanine AMC (0.05g/L) FR17	Maltose (9g/L)
D	β-D Mannopyranoside MU (0.07g/L) FR18	Ornithine AMC (0.05g/L) FR19	Arginine AMC (0.05g/L) FR20	β-D-Glucuronide MU (0.1g/L) FR21
E	α-D-Glucopyranoside MU (0.1g/L)	Cysteine AMC (0.05g/L)	Glycerol (10g/L)	Threonine AMC (0.05g/L)



	FR22	FR23		FR24
F	Methionine AMC (0.05g/L) FR25	Glucose (9g/L)	Sucrose (9g/L)	Proline AMC (0.05g/L) FR26
G	Serine AMC (0.05g/L) FR27	B-Methyl Glucoside (9g/L)	Citrulline AMC (0.05g/L) FR28	Pyroglutamate AMC (0.05g/L) FR29
H	Sorbitol (9g/L)	Tyrosine AMC (0.05g/L) FR30	Leucine AMC (0.05g/L) FR31	Valine AMC (0.05g/L) FR32

*The UREA test requires an overlay of sterile mineral oil.

1. Sugar fermentation tests

Glucose, Glycerol, Maltose, Mannitol, B-Methylglucoside, Rhamnose, Sucrose, Sorbitol, Trehalose, acid production reduces fluorescence of a pH sensitive fluorophore.

2. Fluorogenic substrate tests

An enzyme substrate is linked to a fluorophore which abolishes fluorescence. Enzymic cleavage of the linkage releases the fluorophore which is capable of fluorescence. The tests are **FR13** through **FR32** on the plate test layout.

3. Other specific tests

Urea and **Arginine** hydrolysis increases pH and fluorescence.

Esculin is a fluorescent molecule which, when hydrolyzed, breaks down to non-fluorescent products.

THE DATABASE

The Sensititre® GPID taxon list is shown in Appendix 1 and was developed by testing over two thousand strains. Where species were known to be heterogeneous, large numbers of strains from as many sources as possible were tested.

Environmental contaminants are included to avoid the possibility that they are misidentified as pathogenic organisms.

PRECAUTIONS

These plates are intended for in vitro use only. This device is intended to be used only by personnel with appropriate microbiology training.

Since living microorganisms used with this product can be infectious to the user, proper handling and disposal methods should be used.

STORAGE AND SHELF LIFE

The plates should be stored at room temperature (15-25°C) away from direct sunlight and direct heat. Each plate is packaged in foil with a silica gel desiccant. Do



not use the plate if past its expiration date, if the desiccant color is not blue or orange or the foil pouch is damaged.

Inoculate plate within 5 hours of removal from pouch.

PROCEDURE

Materials Included:

GPID plates, 10/box (sufficient to test 30 isolates)

Adhesive seals

Materials not Included [Product codes]:

Sensititre® demineralised water [T3339]

Mineral oil

Catalase reagent

Hippurate reagent

Optochin sensitivity discs

Coagulase reagent

Oxidase reagent

Ornithine reagent

Sensititre® doseheads (for use with AutoInoculator®/AIM®) [E3010]

Sensititre AutoInoculator® /AIM®[V3010/V3020]

Sensititre AutoReader®/OptiRead® or ARIS[V3029/V3030 or V3090]

Sensititre Vizion® [V2021]

Sensititre Nephelometer® [V3011]

0.5 McFarland turbidity standard [E1041]

Inoculating loops

50ul pipettor and disposable tips

Quality control strains

Blood agar plates (5% sheep blood)

Incubator 34-36°C, non-CO₂

Vortex mixer

Cotton swabs

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Specimens should be collected, transported, stored and then plated on non-selective blood agar to give well-isolated colonies, using standard procedures.

INOCULATION PROCEDURE

Note: It is important to prepare inoculum from a fresh overnight culture.

1. Select 3-5 colonies from a fresh primary agar plate, emulsify in sterile water and adjust to a 0.5 McFarland standard visually or using the Sensititre Nephelometer®. Mix well.

2. Dispense 50µL into each well of the appropriate identification plate section by



either:

- a. Sensititre AutoInoculator®/AIM®. Replace the tube cap with a Sensititre® single-use dosehead and inoculate the plate according to the AutoInoculator® / AIM® instructions; or
- b. Manual pipette. Pour the broth into a sterile seed trough and inoculate the plate using an appropriate pipette.

Inoculate suspension into the plate within 60 minutes.

3. Add mineral oil immediately after inoculation to wells 1A, 5A, and 9A ensuring that well contents are completely covered with oil. The mineral oil can also be dispensed using the Sensititre® AutoInoculator® / AIM®.
4. Cover all wells with the adhesive seal.
5. It is recommended that a purity check is performed by culturing the bacterial suspension onto a blood agar plate.

INCUBATION

Incubate plates at 34-36°C for 18 or 24 hours in the Sensititre® ARIS® or an off-line incubator. Plates can be stacked up to 3 high.

Plates read after 18 hr incubation and giving NO ID may be incubated to 24 hr and reread.

READING TEST RESULTS

No reagent addition is necessary prior to reading. Plates can only be read automatically using the Sensititre® AutoReader® / OptiRead® or ARIS®. For details refer to the appropriate User Manual.

CALCULATION OF IDENTIFICATION

Media fluorescence counts are compared to the appropriate test cut off to generate a positive or negative reaction. The reaction pattern is converted into a biocode which is compared to stored biocodes and is also used to determine a Wilcox probability and thus the organism identification.

REPORTING

GPID generated identification will overwrite any existing identification. Refer to the Sensititre® Software Instructions for further information. After taking clinical details into account, an identification generated by the system may be altered by manually editing.

Edit +/- string (Sensititre® Windows software only)

Individual test results can be displayed. Results near the test cut-off are highlighted



and can be changed which prompts a recalculation. For further details refer to the Sensititre® Software Instructions.

INTERPRETATION GUIDE

Excellent	Identification has few or no tests against and second choice is extremely unlikely.
Good	Identification has few tests against.
Acceptable	Identification has few tests against first choice, second and third choices are possible but remain unlikely.
Low Selectivity	Identification likely to be first, second, or third choices. Additional tests may be required to separate the species.
Group ID.	Identification to genus. The most probable identifications are listed along with the group.
No ID probable	Pattern of data is atypical and does not correspond to any taxon in the database. Indicative of a mixed culture, severely damaged strain, low inocula, calibration error, unclassified taxa or taxa not included in the database.

Tests Against

Test results that are unusual for the top scoring taxon are highlighted. This information can be useful as an indicator of contamination, or the occurrence of a rare biotype.

Repeated occurrence of a certain test against for many different species would indicate either handling problems or plate error.

ADDITIONAL TESTING

Customers using Sensititre® for Windows software may choose to enter results of off-line tests for Catalase, α hemolysis, β hemolysis, Hippurate, Optochin, Coagulase, Oxidase, Yellow pigment or Ornithine at any time during plate setup.

In addition, the Sensititre® software will automatically prompt for additional test results where they can resolve inconclusive identifications. Entry of additional test results prompts the system to re-calculate and display the new identification for review. The user may accept the new identification generated by the input of additional test results, delay a decision pending further off-line work (e.g. serology), or revert to the original system-generated identification with a simple command.

Oxidase



The test should be performed according to the manufacturer's instructions for the product used.

Catalase

Add a drop of 3% hydrogen peroxide to a slide containing a heavy suspension of the organism. Release of bubbles indicates a positive result. The test is used to differentiate between *Streptococcus* (-) and *Micrococcus* (+) or *Staphylococcus* (+), and between *Listeria* (+) or *Corynebacteria* (+) and *Erysipelothrix* (-).

Coagulase

Many commercial kits are available for performing an immediate spot test. It is used to distinguish *S. aureus* (+) from coagulase negative staphylococci such as *S. epidermidis*.

Alpha and beta hemolysis

α hemolysis is a green/brown zone surrounding a colony on a blood agar plate, whereas β hemolysis shows as a clear zone surrounding the colony. Both are due to breakdown of the blood. The test is useful to differentiate streptococci: *S. pyogenes* is β hemolytic, oral streptococci are not β hemolytic; *S. pneumoniae* is α hemolytic while *S. agalactiae* is usually β hemolytic. Hemolysis results for *Enterococcus* spp. must be taken from horse blood agar.

Sensitivity to Optochin

This test requires an overnight incubation. A standardized paper disc containing optochin is placed on an appropriate agar plate inoculated with the test culture. The plate is then incubated overnight. *S. pneumoniae*, unlike other streptococci, will show a zone of inhibition of ≥ 14 mm.

Hippurate hydrolysis

A suspension of organism is inoculated into a commercially prepared tube of hippurate according to the manufacturer's instructions. It is used to differentiate β hemolytic group B streptococci (*S. agalactiae*) which are positive and β hemolytic group A (*S. pyogenes*).

Ornithine

The test should be performed according to manufacturer's instructions for the product used.

It is useful for distinguishing *Staphylococcus lugdunensis* (+) from most other staphylococci.

Yellow pigment

This test may be used to help differentiate *Enterococcus casseliflavus* which produces yellow pigment. The pigment may be seen by collecting several colonies from the purity plate on a cotton swab.



Quinupristin/ Dalfopristin susceptibility

Susceptibility results for Quinupristin/ Dalfopristin can be helpful for distinguishing between *Enterococcus faecalis* which is usually resistant (MIC >4µg/ml) and *Enterococcus faecium* which is usually sensitive.

TABLE I: Differentiation of *Listeria* species

The following tests are recommended

	β hemolysis	Rhamnose	Xylose	CAMP Staph/Rhodo
<i>L monocytogenes</i>	+	+	-	+/-
<i>L ivanovii</i>	+	-	+	-/+
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-/-
<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-/-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	+	+/-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	-/-

TABLE 2: Differentiation of *Staphylococcus hominis/saprophyticus/warneri* group

The following additional tests may be used:

	Novobiocin Disk susceptibility	Anaerobic growth in thioglycollate broth
<i>Staphylococcus hominis</i>	Sensitive	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Resistant	(+) delayed reaction
<i>Staphylococcus warneri</i>	Sensitive	+

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance of the Sensititre® GPID Gram positive identification plate has been established in evaluations at several clinical laboratories compared to a current commercially available identification system. Agreement rates of 91 –100% were seen for *Enterococcus* species, 94.1 to 100% for *Staphylococcus* species and 91.5 to 100% for *Streptococcus* species.

QUALITY CONTROL

The following organisms are recommended for independent laboratory assessment:



<i>Kocuria rosea</i> (<i>Micrococcus roseus</i>)	ATCC 186
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 700296

Quality control isolates were selected to give a positive and negative reaction for each test. Two Gram negative organisms have been included. They were selected because they provide a unique pattern of useful positive / negative reactions, are more readily maintained than alternative Gram positive organisms or are already included as QC isolates for other routine laboratory procedures such as antimicrobial susceptibility testing. Use of Gram negative isolates for QC of this product is appropriate since the Sensititre® GPID product is based upon detection of preformed enzymes resident in non - growing cell suspensions. Such enzymatic reactions are independent of cell type.

Note: Quality control organisms are selected to provide a positive / negative reaction for all tests. Organism identifications may vary from those stated in the QC Table. The acceptability of product performance should be determined by comparison of test results, not identification.

Those reactions expressed as POS or NEG are the required indicators for a plate to pass quality control. The remaining reactions, listed as +, -, (+), (-) are expected reactions. These are for information and not required for quality control.

TABLE 3a: Expected results for recommended QC organisms –

Substrate	18hr.				
	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Urea	-	NEG	POS	(-)	(+)
FR16	NEG	POS	+	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
Sorbitol	(-)	POS	-	(+)	N
Esculin	NEG	POS	-	-	-
Rhamnose	NEG	-	-	POS	-
Trehalose	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	-	+	N
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)



Glucose	NEG	POS	+	+	(+)
β-methyl-glucoside	NEG	POS	(-)	(-)	-
FR30	(+)	POS	NEG	(+)	+
Arginine	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	(-)	N	(-)	(-)
FR20	(+)	(-)	NEG	POS	+
Glycerol	(-)	POS	(+)	+	NEG
Sucrose	NEG	POS	+	-	-
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
Mannitol	(-)	POS	NEG	+	N
Maltose	NEG	POS	(+)	+	-
FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	(-)	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	(+)	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

TABLE 3b: Expected results for recommended QC organisms – 24hr.

Substrate	K. rosea ATCC 186	E. faecalis ATCC 29212	S. epidermidis ATCC 700296	E.coli ATCC 25922	P. aeruginosa ATCC 27853
Urea	-	NEG	POS	-	+
FR16	NEG	(+)	POS	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
Sorbitol	(-)	POS	NEG	+	-
Esculin	NEG	POS	-	-	-
Rhamnose	NEG	-	-	POS	-
Trehalose	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	NEG	+	(-)
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)
Glucose	NEG	POS	+	+	(+)
β-methyl-glucoside	NEG	POS	-	(-)	-



FR30	(+)	POS	NEG	+	(+)
Arginine	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	NEG	-	-	(-)
FR20	(+)	-	NEG	POS	+
Glycerol	(-)	POS	+	+	NEG
Sucrose	NEG	POS	+	-	-
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
Mannitol	(-)	POS	NEG	+	-
Maltose	NEG	POS	+	+	-
FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	-	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	+	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

POS = Positive control for the indicated substrate

NEG = Negative control for the indicated substrate

+= Positive

-= Negative

(+) = Variable: usually positive, but may be occasionally negative

(-) = Variable: usually negative, but may be occasionally positive

Contact your Sensititre® Distributor or TREK Diagnostic Systems in the event that quality control discrepancies cannot be resolved.

APPENDIX 1: Organisms included in the GPID Identification databases

<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp <i>aureus</i>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp <i>capitis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Corynebacterium</i> species	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp <i>hominis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp <i>saprophyticus</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp <i>constellatus</i>
<i>Kocuria rosea</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp <i>equisimilis</i>
<i>Kocuria</i> species	<i>Streptococcus</i> group G
<i>Kytococcus</i> species	



Listeria innocua
Listeria monocytogenes
Listeria species
Micrococcus luteus
Micrococcus species
Rhodococcus equii

Streptococcus mitis
Streptococcus mutans
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes
Streptococcus salivarius
Streptococcus sanguinis
Streptococcus uberis

LIMITATIONS

1. GPID plates cannot be read manually.
2. GPID plates permit automated identification of those Gram positive taxa contained in the Sensititre® database (Appendix 1). Reactions produced by members of other bacterial species will not yield a correct result.
3. GPID Identifications will only be valid for Gram positive isolates grown on blood agar plates.
4. Final interpretation must be left to the discretion of the microbiologist and additional tests may be needed to confirm the identity of the test organism. Many other factors may be taken into consideration in arriving at the final result, including the source of the specimen, the patient's history, colonial and microscopic morphology, Gram stain results, motility, serology and antimicrobial susceptibility patterns.

BIBLIOGRAPHY

1. Kelly, T; Knapp, C; Jenkins, S; Mulholland, P; Gilligan, P; and Rodgers, E. (1998). Comparative evaluation of the new Sensititre® AP90 gram positive identification system to the Vitek GPI test card. *American Society of Microbiology*. Abstract C4.

DISCLAIMER

The information provided in this technical insert is current at the time of printing and may change without notice.

The latest information can be downloaded from www.trekds.com\techinfo or by contacting TREK Technical services.



Manufactured by TREK Diagnostic Systems Limited

Units 17-19 Birches Industrial Estate, East Grinstead
West Sussex RH19 1XZ UK
Tel: +44 1342 318777

Distributed by TREK Diagnostic Systems,
982 Keynote Circle, Suite 6, Cleveland, Ohio 44131
Technical Service USA: 1 (800) 642-7029



GPID_GB_V1.6
Date Updated: 10 January 2014

SENSITITRE® GPID

PANEL PARA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS

GRAMPOSITIVAS

18 o 24 horas

Para uso diagnóstico *in vitro*

Para información completa sobre la placa, incluidos su distribución, el control de calidad, visite la página www.trekds.com/techinfo. Se le solicitará el código de placa y número de lote.

APLICACIONES PREVISTAS

La placa Sensititre® GPID es un producto de diagnóstico *in vitro* para la identificación automatizada de y bacterias gram positivas.

RESUMEN Y PRINCIPIOS DE USO

Cada placa GPID contiene tres secciones con 32 pruebas bioquímicas secas cada una. Las pruebas incluyen medios bioquímicos clásicos reformulados para lectura fluorométrica, y pruebas que utilizan substratos fluorogénicos. Las placas se incuban a 34-36 °C y deben leerse transcurridas 18 o 24 horas en el Sensititre AutoReader® /OptiRead® o ARIS® para comprobar la presencia o ausencia de fluorescencia. El software analiza los datos para la realización de informes. Para informar resultados con productos Sensititre autorizados por la directiva CE IVD y la FDA sólo se deben utilizar instrumentos soportados por Sensititre, es decir, un visor de espejo sencillo, Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader, Optiread y ARIS; ningún otro sistema será soportado.

Composición del panel GPID

	1	2	3	4
A	<u>Urea*</u> (13g/L)	Esculina (0.02g/L)	Arginina (10g/L)	β-D-Galactopiranósido MU (0.1g/L) FR13
B	β-D-Ribofuranósido MU (0.11g/L) FR16	Ramnosa (9g/L)	Alanina AMC (0.04g/L) FR15	Manitol (9g/L)
C	β-D- Glucopiranósido MU (0.1g/L) FR14	Trehalosa (9g/L)	D-Alanina AMC (0.05g/L) FR17	Maltosa (9g/L)
D	β-D-Manopiranósido MU (0.07g/L) FR18	Ornitina AMC (0.05g/L) FR19	Arginina AMC (0.05g/L) FR20	β-D Glucurónido MU (0.1g/L) FR21
E	α-D- Glucopiranósido MU (0.1g/L) FR22	Cisteína AMC (0.05g/L) FR23	Glicerol (9.68g/L)	Treonina AMC (0.05g/L) FR24

F	Metionina AMC (0.05g/L) FR25	Glucosa (9g/L)	Sacarosa (9g/L)	Prolina AMC (0.05g/L) FR26
G	Serina AMC (0.05g/L) FR27	β -MetilGlucosido (9g/L)	Citrulina AMC (0.05g/L) FR28	Piroglutamato AMC (0.05g/L) FR29
H	Sorbitol (9g/L)	Tirosina AMC (0.05g/L) FR30	Leucina AMC (0.05g/L) FR31	Valina AMC (0.05g/L) FR32

*El test UREA requiere la adición de aceite mineral estéril

1. Pruebas de fermentación de azúcar

Glucosa, Glicerol, Maltosa, Manitol, B-Metilglucósido, Ramnosa, Sacarosa, Sorbitol, Trehalosa. La producción de ácido reduce la fluorescencia de un fluoróforo sensible al pH.

2. Pruebas de substrato fluorogénico

El substrato enzimático está vinculado a un fluoróforo que suprime la fluorescencia. La ruptura enzimática de la unión libera el fluoróforo con capacidad de fluorescencia. Las pruebas son FR13 hasta FR32 en el diseño de pruebas en placa.

3. Otras pruebas específicas

La hidrólisis de la **urea** y la **arginina** incrementa el pH y la fluorescencia.

La **esculinina** es una molécula fluorescente que, al hidrolizarse, se descompone en productos no fluorescentes.

BASE DE DATOS

En el Apéndice 1, se incluye la lista de taxones Sensititre® GPID. Esta lista se ha desarrollado a partir de la realización de pruebas a más de dos mil cepas. En caso de especies heterogéneas, se comprobó un gran número de cepas de la mayor cantidad de fuentes posible.

Se incluyen los contaminantes ambientales con el fin de evitar la posibilidad de identificarlos incorrectamente como organismos patogénicos.

PRECAUCIONES

Estas placas están destinadas únicamente al uso *in vitro*. Este producto únicamente debe utilizarlo personal con la formación adecuada en microbiología.

El producto puede ser utilizado con microorganismos patógenos, por lo que deben emplearse métodos adecuados para su manejo y eliminación.

ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

Las placas deben almacenarse a temperatura ambiente (15-25 °C) , alejadas de la luz solar y el calor directos. Cada placa está embalada en papel de aluminio, con un desecante de gel de sílice. No utilice las placas si se ha sobrepasado la fecha de caducidad, si el color del desecante no es azul o naranja o si el embalaje de aluminio está dañado.

El placa debe ser inoculado antes de transcurridas 5 horas.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados:

Placas GPID, 10/caja (suficientes para identificar 30 aislados)

Láminas adhesivas

Materiales necesarios pero no suministrados [Referencia TREK de producto]:

Agua desmineralizada Sensititre® [T3339]

Aceite mineral

Reactivos de catalasa

Reactivos de hipurato

Discos de sensibilidad a la optoquina

Reactivos de coagulasa

Reactivos de Ornitina

Reactivos de oxidasa

Cabezales dosificadores Sensititre® (para utilizar con el Autolnoculator®/AIM® [E3010])

Autolnoculator®/AIM® Sensititre® [V3010/V3020]

AutoReader®/OptiRead® o ARIS Sensititre® [V3029/V3030 o V3090]

Vizion Sensititre®[V2021]

Nephelometer Sensititre®[V3011]

Estándar de turbidez McFarland 0,5 [E1041]

Asas de siembra

Pipeta de 50ul y puntas desechables

Cepas de control de calidad

Placas de agar sangre (5% sangre de oveja)

Incubadora 34-36 °C, no de CO₂

Agitador de vórtex

Torunda de algodón

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben obtenerse, transportarse, almacenarse y sembrarse en placas de agar sangre o no selectivo que proporcione colonias bien aisladas mediante procedimientos estándar.

PROCEDIMIENTO DE INOCULACIÓN

Nota: es importante preparar el inóculo a partir de un cultivo fresco dejado toda la noche.

1. Seleccione 3-5 colonias de una placa de agar primaria, emulsifique en agua estéril y ajuste visualmente a un estándar McFarland 0,5 o mediante un Nephelometer® Sensititre®. Mezcle bien.

2. Vierta 50µl en cada pocillo de la sección de placa de identificación correspondiente mediante cualquiera de los siguientes métodos:
- Autolnoculator®/AIM® Sensititre®. Sustituya el tapón del tubo por un cabezal de dosis de un solo uso Sensititre® e inocule la placa según las instrucciones del Autolnoculator®/AIM®; o
 - Pipeta manual. Vierta el caldo en una batea estéril e inocule la placa por medio de una pipeta adecuada.

Inocule la suspensión en la placa antes de 60 minutos.

3. Añada aceite mineral inmediatamente después de inocular en los pocillos 1A, 5A, y 9A y asegúrese de que el contenido del pocillo está completamente cubierto de aceite. El aceite mineral también puede dispensarse con el Autolnoculator®/AIM® Sensititre®.

4. Tape todos los pocillos con la lámina adhesiva.

5. Se recomienda realizar una comprobación de la pureza cultivando la suspensión bacteriana en una placa de agar sangre.

INCUBACIÓN

Incube las placas a 34-36 °C durante 18 o 24 horas en el ARIS Sensititre® o en una incubadora. Se pueden apilar hasta 3 placas.

Si tras una incubación de 18 horas no se llega a una identificación, las placas pueden ser reincubadas y leídas a las 24 horas.

LECTURA DE LOS RESULTADOS DE PRUEBAS

No es necesario agregar un reactivo antes de la lectura. Las placas sólo pueden leerse automáticamente utilizando el AutoReader®/OptiRead® o ARIS Sensititre®. Para obtener más información, consulte el manual del usuario correspondiente.

CÁLCULO DE LA IDENTIFICACIÓN

Los recuentos de fluorescencia de los medios se comparan con el corte de la prueba correspondiente para generar una reacción positiva o negativa. La pauta de reacción se convierte a un biocódigo que se compara con otros biocódigos almacenados. Este biocódigo se utiliza también para determinar una probabilidad Wilcox y, así, la identificación del organismo.

INFORME DE RESULTADOS

Las identificaciones generadas por GPID sobrescriben cualquier identificación existente. Consulte las instrucciones del software Sensititre® para obtener más información. Después de tener en cuenta los detalles clínicos, se puede modificar una identificación generada por el sistema mediante una edición manual.

Cadena Edit+/- (sólo software Sensititre® para Windows)

Los resultados de las pruebas pueden mostrarse individualmente. Los resultados próximos al corte de la prueba están resaltados y se pueden cambiar, lo que induce un segundo cálculo. Para obtener más detalles, consulte las instrucciones del software Sensititre®.

GUÍA DE INTERPRETACIÓN

Excelente	La identificación tiene muy pocas pruebas o ninguna prueba en contra y una segunda opción es muy poco probable.
Buena	La identificación tiene pocas pruebas en contra.
Aceptable	La identificación tiene pocas pruebas en contra como primera opción. Una segunda o tercera opción es posible, pero sigue siendo poco probable.
Baja selectividad	Es posible que la identificación sea la primera, segunda o tercera opción. Puede ser necesaria la realización de pruebas adicionales para separar las especies.
ID de grupo.	La identificación en género. Las identificaciones más probables están indicadas con el grupo.
No hay ID probable	La pauta de datos es atípica y no corresponde con ningún taxón de la base de datos. Indicador de un cultivo mixto, cepa con daños graves, inóculos bajos, error de calibración, taxones no clasificados o taxones no incluidos en la base de datos.

Pruebas en contra

Los resultados de pruebas que no son comunes para los taxones de puntuación superior aparecen resaltados. Esta información puede ser útil como un indicador de contaminación o de presencia de biotipo atípico.

La aparición repetida de una determinada prueba en contra para muchas especies diferentes indicaría problemas de manipulación o un error de placa.

PRUEBAS ADICIONALES

Los usuarios que utilicen el software Sensititre® para Windows pueden introducir los resultados de pruebas adicionales para catalasa, α hemólisis, β hemólisis, hipurato, optoquina, coagulasa, oxidasa, Pigmento amarillo o Ornitina en cualquier momento de la preparación de las placas.

Además, el software Sensititre® solicita automáticamente los resultados de las pruebas adicionales cuando puedan resolver las identificaciones no concluyentes. La introducción de los resultados de las pruebas adicionales hace que el sistema vuelva a calcular y mostrar la nueva identificación para su revisión. El usuario puede aceptar la nueva identificación generada por la introducción de resultados de pruebas adicionales, retrasar una decisión que precise más trabajos auxiliares (ej.: serología) o restablecer la identificación original generada por el sistema con un simple comando.

Oxidasa

La prueba debe realizarse según las instrucciones del fabricante del producto utilizado.

Catalasa

Agregue una gota de peróxido de hidrógeno 3% sobre un porta en el que se ha depositado una suspensión concentrada del organismo. La liberación de burbujas indica un resultado positivo. La prueba se utiliza para diferenciar entre *Streptococcus* (-) y *Micrococcus* (+) o *Staphylococcus* (+), y *Listeria* (+) o *Corynabacteria* (+) y *Erysipelotrix* (-).

Coagulasa

Existen muchos kits comerciales para realizar una prueba *in situ* inmediata. Se utiliza para distinguir *S. aureus* (+) de los estreptococos coagulasa negativos, tales como *S. epidermidis*.

Alfa y beta hemólisis

La α hemólisis es un halo verde/marrón que rodea una colonia en una placa de agar sangre, mientras que la β hemólisis se muestra como un halo clara alrededor de la colonia. Las dos hemólisis se producen por la descomposición de la sangre. La prueba es útil para diferenciar los estreptococos: *S. pyogenes* es β hemolítico, los estreptococos orales no son β hemolíticos; *S. pneumoniae* es α hemolítico, mientras que *S. agalactiae* es normalmente β hemolítico. Los resultados de la hemólisis correspondientes a la bacteria *Enterococcus* spp. deben obtenerse a partir de agar sangre (sangre de caballo).

Sensibilidad a la optoquina

Esta prueba requiere una incubación durante la noche. Se coloca un disco de papel estandarizado con optoquina en una placa de agar adecuada inoculada con el cultivo de prueba. La placa se incuba durante la noche. *S. pneumoniae*, a diferencia de otros estreptococos, presenta una zona de inhibición de ≥ 14 mm.

Hidrólisis de hipurato

Se inocula una suspensión de organismo en un tubo de hipurato ya preparado de fábrica según las instrucciones del fabricante. Se utiliza para diferenciar estreptococos β hemolíticos.

Ornitina

El ensayo se debe realizar según las instrucciones suministradas por el fabricante del producto. Resulta de utilidad para distinguir *Staphylococcus lugdunensis* (+) de la mayoría de los demás estafilococos.

Pigmento amarillo

Este ensayo puede facilitar la diferenciación de *Enterococcus casseliflavus*, que produce un pigmento amarillo. El pigmento se puede observar recogiendo varias colonias de la placa de pureza con una torunda de algodón.

Sensibilidad a la quinupristina/dalfopristina

Los resultados de la prueba de sensibilidad a la quinupristina/dalfopristina pueden resultar muy útiles a la hora de distinguir entre la bacteria *Enterococcus faecalis*, que normalmente es resistente (MIC > 4 $\mu\text{g/ml}$) y la *Enterococcus faecium*, por norma general sensible.

TABLA 1: Diferenciación de especies de *Listeria*

Se recomienda realizar las siguientes pruebas:

	β hemólisis	Ramnosa	Xilosa	CAMP Staph/Rhodo
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	+/-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	+	-/+
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-/-
<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-/-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	+	+/-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	-/-

TABLA 2: Diferenciación del grupo *Staphylococcus hominis/saprofiticus/warneri*

Se pueden utilizar las siguientes pruebas:

	Sensibilidad a la Novobiocina	Crecimiento anaerobio en caldo tioglicolato
<i>Staphylococcus hominis</i>	Sensible	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Resistente	(+)reacción tardía
<i>Staphylococcus warneri</i>	Sensible	+

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El rendimiento de la placa de identificación gram positiva Sensititre® GPID se ha establecido por medio de evaluaciones en varios laboratorios clínicos en comparación con un sistema de identificación actual disponible en el mercado. Se observaron índices de conformidad del 91 al 100% para especies de enterococos, del 94,1 al 100% para especies de estafilococos y del 91,5 al 100% para especies de estreptococos.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar los siguientes organismos para la evaluación en laboratorio independiente:

<i>Kocuria rosea</i> (<i>Micrococcus roseus</i>)	ATCC 186
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27583
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 700296

Se seleccionaron cepas de control de calidad para obtener una reacción negativa y positiva para cada prueba. Se han incluido dos organismos gram negativos. Estos organismos se seleccionaron porque ofrecen una pauta exclusiva de reacciones positivas/negativas, se mantienen mejor que los organismos gram positivos o ya se incluyen como aislados de garantía de calidad en otros procedimientos habituales de laboratorio, tales como pruebas de sensibilidad antimicrobiana. El uso de aislados gram negativos de garantía de calidad para este producto es adecuado, ya que el producto Sensititre® GPID está basado en la detección de enzimas residentes en suspensiones de células sin crecimiento. Estas reacciones enzimáticas son independientes del tipo de célula.

Nota: los organismos de control de calidad se seleccionan para ofrecer una reacción positiva/negativa en todas las pruebas. Las identificaciones de organismos pueden variar con respecto a las indicadas en la Tabla de garantía de calidad. La aceptabilidad del rendimiento del producto debe determinarse comparando los resultados de las pruebas, no la identificación.

Las reacciones indicadas con POS o NEG son los indicadores necesarios para que una placa supere el control de calidad. Las reacciones restantes, indicadas con +, -, (+), (-) son reacciones previstas. Estas reacciones tienen una finalidad informativa y no son necesarias para el control de calidad.

TABLA 3a: Resultados previstos para organismos de control de calidad recomendados - 18hr

Substrate	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Urea	-	NEG	POS	(-)	(+)
FR16	NEG	POS	+	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
Sorbitol	(-)	POS	-	(+)	N
Esculina	NEG	POS	-	-	-
Ramnosa	NEG	-	-	POS	-
Trehalosa	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	-	+	N
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)
Glucosa	NEG	POS	+	+	(+)
β-metil-glucosido	NEG	POS	(-)	(-)	-
FR30	(+)	POS	NEG	(+)	+
Arginina	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	(-)	N	(-)	(-)
FR20	(+)	(-)	NEG	POS	+
Glicerol	(-)	POS	(+)	+	NEG
Sacarosa	NEG	POS	+	-	-
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
Manitol	(-)	POS	NEG	+	N
Maltosa	NEG	POS	(+)	+	-
FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	(-)	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	(+)	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

TABLA 3b: Resultados previstos para organismos de control de calidad recomendados - 24hr

Substrato	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Urea	-	NEG	POS	-	+
FR16	NEG	(+)	POS	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
Sorbitol	(-)	POS	NEG	+	-
Esculina	NEG	POS	-	-	-
Ramnosa	NEG	-	-	POS	-
Trehalosa	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	NEG	+	(-)
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)
Glucosa	NEG	POS	+	+	(+)
β-metil-glucosido	NEG	POS	-	(-)	-
FR30	(+)	POS	NEG	+	(+)
Arginina	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	NEG	-	-	(-)
FR20	(+)	-	NEG	POS	+
Glicerol	(-)	POS	+	+	NEG
Sacarosa	NEG	POS	+	-	-
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
Manitol	(-)	POS	NEG	+	-
Maltosa	NEG	POS	+	+	-
FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	-	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	+	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

POS = Control positivo para el substrato indicado

NEG = Control negativo para el substrato indicado

+= Positivo

-= Negativo

(+) = Variable: normalmente positivo, pero puede ser negativo ocasionalmente

(-) = Variable: normalmente negativo, pero puede ser positivo ocasionalmente

Póngase en contacto con su distribuidor de Sensititre® o con TREK Diagnostic Systems en caso de que no se puedan solucionar los problemas de control de calidad.

APÉNDICE 1: Organismos incluidos en las bases de datos de identificación GPID

<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp <i>aureus</i>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp <i>capitis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Corynebacterium</i> species	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp <i>hominis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp <i>saprophyticus</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp <i>constellatus</i>
<i>Kocuria rosea</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp <i>equisimilis</i>
<i>Kocuria</i> species	<i>Streptococcus group G</i>
<i>Kytococcus</i> species	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Listeria innocua</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Listeria</i> species	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Micrococcus</i> species	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Rhodococcus equii</i>	<i>Streptococcus uberis</i>

LIMITACIONES

1. Las placas (GPID) no pueden leerse manualmente.
2. Las placas (GPID) permiten una identificación automatizada de los taxones (gram positivos) incluidos en la base de datos Sensititre® (Apéndice 1). Las reacciones producidas por otras especies bacterianas no producirán un resultado correcto.
3. Las identificaciones de **GPID** sólo serán válidas para aislados gram positivos que han crecido en placas de agar sangre.
4. La interpretación final debe dejarse a criterio del microbiólogo y es posible que sea necesario realizar pruebas adicionales para confirmar la identidad del organismo objeto de la prueba. Pueden tenerse en cuenta muchos otros factores para llegar al resultado final, como el origen de la muestra, el historial del paciente, la morfología microscópica y de las colonias, los resultados de las tinciones gram, la motilidad, la serología y las pautas de sensibilidad antimicrobiana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kelly, T; Knapp, C; Jenkins, S; Mulholland, P; Gilligan, P; and Rodgers, E. (1998). Comparative evaluation of the new Sensititre® AP90 gram positive identification system to the Vitek GPI test card. *American Society of Microbiology. Abstract C4.*

EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD

La información proporcionada en esta inserción técnica está actualizada en el momento de la impresión, pero puede ser modificada sin previo aviso.

La información más última se puede descargar para www.trekds.com\Techinfo o entrando en contacto con TREK servicios técnicos.



Producido por TREK Diagnostic Systems
Units 17-19 Birches Industrial Estate, East Grinstead,
West Sussex, RH19 1XZ, UK
Tel.: +44-1342-318777

Distribuido por TREK Diagnostic Systems,
982 Keynote Circle, Suite 6, Cleveland, Ohio 44131
Technical Service USA: 1 (800) 642-7029



GPID_E_V1.6
Date Updated: 10 January 2014



SENSITITRE® GPID

PANNELLO IDENTIFICAZIONE

BATTERI GRAM POSITIVI

18 o 24 ore

Solo per uso diagnostico *in vitro*

Per informazioni complete sulle piastre, quali la struttura, i dati di controllo qualità, visitare il sito Web www.trekds.com/techinfo. Nel sito verranno richiesti il codice e il numero di lotto di ciascuna piastra.

USO PREVISTO

Il pannello GPID Sensititre® è un prodotto diagnostico *in vitro* per l'identificazione automatizzata di batteri Gram-positivi.

SOMMARIO E PRINCIPI DI IMPIEGO

Ogni pannello GPID contiene tre sezioni, ciascuna contenente 32 test biochimici in forma disidratata. Questi test includono terreni di coltura biochimici riformulati per la lettura fluorometrica e test che utilizzano substrati fluorogenici.

I pannelli vengono incubate a 34-36°C e devono essere letti dopo 18 o 24 ore con Sensititre AutoReader®/OptiRead® o con ARIS® per verificare la presenza o assenza di fluorescenza. I dati vengono analizzati tramite software per poter refertare i risultati. Solo strumenti supportati da Sensititre, quali un semplice visore a specchio, Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader, Optiread e ARIS devono essere utilizzati per refertare i risultati con prodotti per IVD marcati CE e approvati dalla FDA statunitense. Qualsiasi altro sistema utilizzato non sarà supportato.

GPID Schema del Pannello

	1	2	3	4
A	<u>Urea*</u> (13g/L)	Esculina (0.02g/L)	Arginina (10g/L)	β-D-Galactopyranoside MU (0.1g/L) FR13
B	β-D-Ribofuranoside MU (0.11g/L) FR16	Ramnosio (9g/L)	Alanina AMC (0.04g/L) FR15	Mannitolo (9g/L)

C	β -D-Glucopiranoside MU (0.1g/L) FR14	Trealosio (9g/L)	D-Alanina AMC (0.05g/L) FR17	Maltosio (9g/L)
D	β -D Mannopiranoside MU (0.07g/L) FR18	Ornitina AMC (0.05g/L) FR19	Arginina AMC (0.05g/L) FR20	β -D-Glucuronide MU (0.1g/L) FR21
E	α -D-Glucopiranoside MU (0.1g/L) FR22	Cisteina AMC (0.05g/L) FR23	Glicerolo (10g/L)	Treonina AMC (0.05g/L) FR24
F	Metionina AMC (0.05g/L) FR25	Glucosio (9g/L)	Saccarosio (8g/L)	Prolina AMC (0.05g/L) FR26
G	Serina AMC (0.05g/L) FR27	β -Methyl Glucoside (9g/L)	Citrulina AMC (0.05g/L) FR28	Pyroglutamate AMC (0.05g/L) FR29
H	Sorbitolo (9g/L)	Tirosine AMC (0.05g/L) FR30	Leucina AMC (0.05g/L) FR31	Valina AMC (0.05g/L) FR32

*Il test dell' UREA richiede l'aggiunta di olio minerale sterile.

1. Test di fermentazione degli zuccheri

Glucosio, Glicerolo, Maltosio, Mannitolo, B-Metilglucoside, Ramnosio, Saccarosio, Sorbitolo, Trealosio. La produzione di acido riduce la fluorescenza di fluorofori pH-sensibili.

2. Test di substrati fluorogenici

Un substrato enzimatico è legato ad un fluoroforo, che elimina la fluorescenza. La scissione enzimatica del legame rilascia il fluoroforo, che è in grado di emettere fluorescenza. I test sono da FR13 a FR32 sullo schema del pannello.

3. Altri test specifici

L'idrolisi di **Urea** e **Arginina** aumenta il pH e la fluorescenza.

L'Esculina è una molecola fluorescente che, quando idrolizzata, si disgrega in prodotti non fluorescenti.

IL DATABASE

L'elenco degli organismi identificati dal pannello GPID Sensititre® è riportato in Appendice 1 ed è stato sviluppato testando oltre duemila ceppi. Per le specie note come eterogenee, è stato testato un elevato numero di ceppi provenienti da quante più fonti possibili.

Sono inclusi contaminanti ambientali per evitare la possibilità che vengano erroneamente identificati come organismi patogeni.

PRECAUZIONI

Questi pannelli sono esclusivamente per l'uso *in vitro*. Questo tipo di test deve essere utilizzato solo da personale competente nel campo della microbiologia.

Visto che con questo prodotto si testano microrganismi viventi, che potrebbero rappresentare fonte di infezione per l'utilizzatore, si consiglia di fare uso di metodi di trattamento e di eliminazione adeguati.

CONSERVAZIONE E DURATA

Conservare i pannelli a temperatura ambiente (15-25°C) al riparo dalla luce diretta del sole e dal calore. Ogni pannello è imballato in fogli di alluminio con all'interno un essiccante a base di gel di silice. Non utilizzare il pannello se l'essiccante non è di colore blu o arancione o se il sacchetto di imballaggio è danneggiato o se si è oltre la data di scadenza.

Inoculare il pannello entro 5 ore da quando è stato rimosso dall'imballaggio.

PROCEDURA

Materiali inclusi :

Pannelli GPID, 10 per confezione (sufficienti per testare 30 isolati)
Pellicola adesiva

Materiali non inclusi (TREK Codice prodotto):

Acqua demineralizzata Sensititre® [T3339]

Olio minerale

Catalasi

Ippurato

Dischi di sensibilità all'optochina

Coagulasi

Ossidasi

Ornitasi

Tappi dosatori Sensititre® (da utilizzare con Autolnoculator®/AIM®) [E3010]

Autolnoculator®/AIM® Sensititre® [V3010/V3020]

AutoReader®/OptiRead® o ARIS Sensititre® [V3029/V3030 or V3090]

Vizion® Sensititre® [V2021]

Nephelometer® Sensititre® [V3011]

Standard di torbidità McFarland 0.5 [E1041]

Anse calibrate di inoculazione

Pipetta da 50µL e puntali monouso

Ceppi di controllo qualità

Piastre di agar sangue (5% sangue di pecora)

Incubatore a 34-36°C, senza CO₂

Vortex

Tamponcino di cotone

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni devono essere prelevati, raccolti, conservati e quindi seminati su agar sangue non selettivo per ottenere colonie ben isolate, come da procedure standard.

PROCEDURA DI INOCULO

Nota: È importante preparare l'inoculo da una coltura fresca incubata il giorno precedente.

1. Trasferire 3-5 colonie da una piastra di agar primario ed emulsionare in acqua sterile, aggiustare ad uno standard di 0,5 McFarland visivamente o utilizzando il Nephelometer® Sensititre®. Mescolare con cura.
2. Inoculare 50µL in ciascun pozzetto della sezione della piastra di identificazione relativa tramite:
 - a. Autolnoculator®/AIM® Sensititre®. Sostituire il tappo della provetta con un tappo dosatore Sensititre® monouso e inoculare il pannello secondo le istruzioni dell'Autolnoculator®/AIM®.
Oppure:
 - b. Pipetta manuale. Versare la sospensione in un contenitore sterile e inoculare il pannello utilizzando una pipetta adeguata.
Inoculare la sospensione nel pannello entro 60 minuti.
3. Aggiungere olio minerale immediatamente dopo l'inoculo della sospensione nei pozzetti 1A, 5A e 9 accertandosi che il contenuto dei pozzetti sia completamente

- ricoperto di olio. L'olio minerale può essere inoculato anche tramite l'AutoInoculator®/AIM® Sensititre®.
4. Coprire tutti i pozzetti con la pellicola adesiva.
 5. Si consiglia di eseguire un controllo della purezza seminando la sospensione su una piastra di agar sangue.

INCUBAZIONE

Incubare le piastre a 34-36°C per 18 o 24 ore nell'ARIS Sensititre® o in un'incubatore esterno ivi è possibile impilare fino a 3 piastre.

Pannelli letti dopo 18 ore che danno come risultato NO ID possono essere incubati a 24 ore e poi riletti.

LETTURA DEI RISULTATI DEL TEST

Prima della lettura non occorre aggiungere alcun reagente. Le piastre possono essere lette solo automaticamente utilizzando l' AutoReader®/OptiRead® o l'ARIS Sensititre®. Per maggiori dettagli, consultare il Manuale Utente.

CALCOLO DELL'IDENTIFICAZIONE

I valori della fluorescenza vengono confrontati con appropriati cut off per generare una reazione positiva o negativa. Lo schema di reazione viene convertito in un bio-codice che viene confrontato con bio-codici memorizzati e che viene utilizzato anche per determinare la probabilità Wilcox e quindi l'identificazione dell'organismo.

PRESENTAZIONE DEI RISULTATI

Un'identificazione generata dal pannello GPID riscrive eventuali identificazioni esistenti. Per maggiori informazioni, fare riferimento alle istruzioni del software Sensititre®.

Dopo aver considerato i dettagli clinici, è possibile modificare manualmente un'identificazione generata dal sistema.

Modifica+/- a filo (solo con il software Sensititre® per Windows)

È possibile visualizzare i singoli risultati dei test. Vengono evidenziati i risultati vicini ai cut off dei test, una volta cambiati ha inizio il ricalcolo. Per maggiori dettagli, consultare le istruzioni del software Sensititre®.

GUIDA ALL'INTERPRETAZIONE

Eccellente	L'identificazione ha pochi test contrari o non ne ha ed una seconda scelta è estremamente improbabile.
Buono	L'identificazione ha alcuni test contrari.
Accettabile	L'identificazione di prima scelta ha alcun test contrari; la seconda e la terza scelta sono possibili ma restano improbabili.
Bassa selettività	L'identificazione potrebbe essere la prima, la seconda o la terza scelta. Potrebbero essere necessari test aggiuntivi per separare le specie.
Identif. Gruppo	Identificazione del genere, le identificazioni più probabili sono elencate con il gruppo.

Nessuna identif Il profilo dei dati è atipico e non corrisponde ad alcun taxon nel database. È indicativo di colture miste, ceppi gravemente danneggiati, poco inoculo, errore di calibrazione, taxa non classificati o non inclusi nel database.

Test contrari

I risultati di test, insoliti per i taxa riportati in cima, vengono evidenziati. Questa informazione può essere utile come indicazione di contaminazione o della presenza di un biotipo raro.

Il verificarsi ripetuto di certi test contrari per molte specie diverse potrebbe indicare problemi di manipolazione o errori nella piastra.

TEST ADDIZIONALI

I clienti che utilizzano il software Sensititre® per Windows possono scegliere di inserire i risultati dei test addizionali per catalasi, α emolisi, β emolisi, appurato, optochina, coagulasi, ossidasi, Pigmento giallo o Ornitina in qualsiasi momento durante la preparazione della piastra.

Inoltre, il software Sensititre® chiede automaticamente i risultati dei test addizionali laddove ci siano delle identificazioni incerte da risolvere. L'inserimento di risultati dei test addizionali consente al sistema di ricalcolare e visualizzare la nuova identificazione. L'utente può accettare la nuova identificazione generata dall'inserimento dei risultati dei test aggiuntivi, ritardare una decisione per continuare il lavoro off line (ad esempio, sierologia), o tornare all'identificazione precedente generata dal sistema con un semplice comando.

Ossidasi

Il test deve essere eseguito secondo le istruzioni del fabbricante del prodotto utilizzato.

Catalasi

Aggiungere una goccia di 3% di perossido di idrogeno su un vetrino contenente un'elevata sospensione dell'organismo. La formazione di bolle indica un risultato positivo. Il test è utilizzato per la differenziazione tra *Streptococcus* (-) e *Micrococcus* (+) o *Staphylococcus* (+), e *Listeria* (+) o *Corynebacteria* (+) e *Erysipelothrix* (-).

Coagulasi

In commercio sono disponibili molti kit per eseguire test saltuari immediati. È utilizzata per fare una distinzione tra *S. aureus* (+) e stafilococchi coagulasi negativi quali *S. epidermidis*.

Alfa e beta emolisi

La α emolisi è una zona verde/marrone che circonda una colonia su una piastra di agar sangue, mentre la β emolisi appare come una zona chiara che circonda la colonia. Entrambe sono dovute alla disaggregazione del sangue. Il test è utile per la differenziazione degli streptococchi: *S. pyogenes* è β emolitico, gli streptococchi orali non sono β emolitici; *S. pneumoniae* è α emolitico mentre *S. agalactiae* solitamente è β emolitico. I risultati dell'emolisi per l'*Enterococcus* spp. devono essere presi dall'agar al sangue di cavallo.

Sensibilità all'optochina

Questo test richiede l'incubazione per una notte. Un disco di carta standard contenente optochina viene posto su una piastra di agar idonea inoculata con la coltura di test. La piastra viene quindi incubata per la notte. *S. pneumoniae*, a differenza di altri streptococchi, mostra una zona di inibizione ≥ 14 mm.

Idrolisi di ippurato

La sospensione di un organismo viene inoculata in un tubo di ippurato preparato commercialmente secondo le istruzioni del fabbricante. Si utilizza per la differenziazione di streptococchi β emolitici di gruppo B (*S. agalactiae*) che sono positivi, da quelli β emolitici di gruppo A (*S. pyogenes*).

Ornitina

Il test va condotto secondo le istruzioni fornite dal produttore per il prodotto in uso. È utile per distinguere *Staphylococcus lugdunensis* (+) dalla maggior parte degli altri stafilococchi.

Pigmento giallo

Questo test può essere impiegato per facilitare la differenziazione di *Enterococcus casseliflavus*, che produce un pigmento giallo. Il pigmento viene reso visibile raccogliendo diverse colonie dalla piastra di verifica della purezza su di un tamponcino di cotone.

Suscettibilità al Quinupristin/Dalfopristin

I risultati di suscettibilità al Quinupristin/Dalfopristin possono essere utili per distinguere l'*Enterococcus faecalis* che è normalmente resistente (MIC $> 4\mu\text{g/ml}$) dall'*Enterococcus faecium* che è normalmente sensibile.

TABELLA I: Differenziazione delle specie di *Listeria*

Si consigliano i seguenti test:

	β emolisi	Ramnosio	Xilosio	CAMP Staph/Rhodo
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	+/-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	+	-/+
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-/-
<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-/-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	+	+/-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	-/-

TABELLA 2: Differenziazione del gruppo *Staphylococcus hominis/saprophyticus/warneri*

Possono essere eseguiti i seguenti test addizionali:

	Novobiocina Dischetto	Crescita anaerobica in brodo tioglicolato
<i>Staphylococcus hominis</i>	Sensibile	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Resistente	(+) reazione ritardata
<i>Staphylococcus warneri</i>	Sensibile	+

PERFORMANCE

Le performance della piastra di identificazione Gram-positiva GPID Sensititre® sono state valutate da vari laboratori rispetto ai sistemi di identificazione attualmente disponibili in commercio; valori di concordanza del 91 – 100% sono stati osservati per specie di Enterococco, dal 94,1 al 100% per specie di Stafilococco e dal 91,5 al 100% per specie di Streptococco.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Per le valutazioni indipendenti di laboratorio si consigliano i seguenti organismi:

<i>Kocuria rosea</i> (<i>Micrococcus roseus</i>)	ATCC 186
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27583
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 700296

Sono stati selezionati gli isolati per il controllo di qualità per ottenere una reazione positiva e negativa per ciascun test. Sono stati inclusi due organismi Gram-negativi. Questi sono stati scelti perché consentono di ottenere un profilo unico di reazioni positive/negative utili, perché sono più semplici da mantenere rispetto ad altri organismi Gram-positivi, o perché sono già inclusi come isolati QC per altre procedure ordinarie di laboratorio come ad esempio i test di sensibilità antimicrobica. L'uso di isolati Gram-negativi per il controllo di qualità di questo prodotto è opportuno in quanto il prodotto GPID Sensititre® si basa sul rilevamento di enzimi preformati residenti in sospensioni di cellule senza crescita. Tali reazioni enzimatiche sono indipendenti dal tipo di cellula.

Nota: Gli organismi del controllo di qualità sono selezionati per ottenere una reazione positiva/negativa per tutti i test. Le identificazioni degli organismi possono variare rispetto a quelle indicate nella Tabella QC. L'accettabilità delle performance di un prodotto deve essere determinata mediante il confronto dei risultati dei test, non mediante l'identificazione.

Le reazioni contrassegnate da POS o NEG sono gli indicatori necessari perché una

piastra passi il controllo qualità. Le restanti reazioni elencate come +, -, (+), (-) sono reazioni previste, sono a titolo informativo e non sono necessarie per il controllo qualità.

TABELLA 3a: Risultati previsti per gli organismi QC consigliati – 18hr

Substrate	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Urea	-	NEG	POS	(-)	(+)
FR16	NEG	POS	+	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
Sorbitolo	(-)	POS	-	(+)	N
Esculina	NEG	POS	-	-	-
Ramnosio	NEG	-	-	POS	-
Trealosio	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	-	+	N
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)
Glucosio	NEG	POS	+	+	(+)
β-methyl-glucoside	NEG	POS	(-)	(-)	-
FR30	(+)	POS	NEG	(+)	+
Arginina	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	(-)	N	(-)	(-)
FR20	(+)	(-)	NEG	POS	+
Glicerolo	(-)	POS	(+)	+	NEG
Sucrose	NEG	POS	+	-	-
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
Mannitolo	(-)	POS	NEG	+	N
Maltosio	NEG	POS	(+)	+	-
FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	(-)	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	(+)	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

TABELLA 3b: Risultati previsti per gli organismi QC consigliati – 24hr

Substrate	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Urea	-	NEG	POS	-	+
FR16	NEG	(+)	POS	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
Sorbitolo	(-)	POS	NEG	+	-
Esculina	NEG	POS	-	-	-
Ramnosio	NEG	-	-	POS	-
Trealosio	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	NEG	+	(-)
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)
Glucosio	NEG	POS	+	+	(+)
β-methyl-glucoside	NEG	POS	-	(-)	-
FR30	(+)	POS	NEG	+	(+)
Arginina	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	NEG	-	-	(-)
FR20	(+)	-	NEG	POS	+
Glicerolo	(-)	POS	+	+	NEG
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
Mannitolo	(-)	POS	NEG	+	-
Maltosio	NEG	POS	+	+	-
FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	-	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	+	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

POS = Controllo positivo per il substrato indicato

NEG = Controllo negativo per il substrato indicato

+ = Positivo

- = Negativo

(+) = Variabile: solitamente positivo, ma talvolta può essere negativo

(-) = Variabile: solitamente negativo, ma talvolta può essere positivo

Nel caso in cui non sia possibile risolvere discrepanze nel controllo di qualità, contattare il distributore Sensititre® o TREK Diagnostic Systems.

APPENDICE 1: Organismi inclusi nel database di identificazione GPID

<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp <i>aureus</i>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp <i>capitis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Corynebacterium</i> species	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp <i>hominis</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Stephylococcus lugdunensis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp <i>saprophyticus</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp <i>constellatus</i>
<i>Kocuria rosea</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp <i>equisimilis</i>
<i>Kocuria</i> species	<i>Streptococcus group G</i>
<i>Kytococcus</i> species	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Listeria innocua</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Listeria</i> species	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Micrococcus</i> species	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Rhodococcus equii</i>	<i>Streptococcus uberis</i>

LIMITAZIONI

1. I pannelli GPID non possono essere lette manualmente.
2. I pannelli GPID consentono l' identificazione automatizzata dei taxa Gram-positivi contenuti nel database Sensititre® (Appendice 1). Le reazioni prodotte da organismi di altre specie batteriche non danno risultati corretti.
3. Le identificazioni GPID sono valide solo per isolati Gram-positivi cresciuti su piastre di agar sangue.
4. L'interpretazione finale deve essere lasciata alla discrezione del microbiologo e per confermare l'identità dell'organismo possono essere necessari ulteriori test. Per ottenere il risultato finale occorre prendere in considerazione molti altri fattori, tra cui l'origine del campione, la storia del paziente, la morfologia della colonia, il test a microscopio, i risultati della colorazione Gram, la motilità, la sierologia e i pattern di sensibilità antimicrobica.

BIBLIOGRAFIA

1. Kelly, T; Knapp, C; Jenkins, S; Mulholland, P; Gilligan, P; and Rodgers, E. (1998). Comparative evaluation of the new Sensititre® AP90 gram positive identification system to the Vitek GPI test card. *American Society of Microbiology*. Abstract C4.

ESCLUSIONE DI RESPONSABILITÀ

Le informazioni fornite in questa scheda tecnica riflettono la situazione al momento della stampa e sono soggette a modifica senza preavviso.

Le ultime informazioni possono essere scaricate da www.trekds.com\techinfo o contattando il servizio tecnico di TREK. Da tradurre.



Prodotto da TREK Diagnostic Systems
Units 17-19 Birches Industrial Estate, East Grinstead,
West Sussex, RH19 1XZ, UK
Tel: +44-1342-318777

Distribuito da TREK Diagnostic Systems
982 Keynote Circle, Suite 6, Cleveland, Ohio 44131
Technical Service USA: 1 (800) 642-7029



GPID_I_V1.6
Date Updated: 10 January 2014

SENSITITRE® GPID IDENTIFIZIERUNG PLATTE FÜR GRAM POSITIVEN BAKTERIEN

18 oder 24 Stunden
Nur für *in vitro* Gebrauch

Umfassende Informationen über die Plattenkultur, einschließlich Platten-Layout, Informationen zur Qualitätskontrolle, finden Sie auf www.trekds.com/techinfo. Platten-Code und Chargennummer werden benötigt.

VERWENDUNGSZWECK:

Die Sensititre® GPID Platte ist ein *in-vitro* Diagnoseprodukt für die automatisierte Identifizierung von grampositiven Bakterien.

ZUSAMMENFASSUNG UND ANWENDUNGSGRUNDSÄTZE:

Jede GPID Platte enthält drei Abschnitte, wobei jeder Abschnitt wiederum 32 getrocknete biochemische Tests umfasst. Die Tests enthalten klassische biochemische Medien, die zum Zweck der fluorometrischen Ablesung neu formuliert wurden, sowie weitere Tests, die fluorogenische Substrate verwenden. Die Platten werden bei 34-36°C inkubiert und sollten nach 18 oder 24 Stunden auf dem Sensititre AutoReader®/OptiRead® oder ARIS® im Hinblick auf das Vorhandensein oder die Abwesenheit von Fluoreszenz abgelesen werden. Zur Erstellung eines Berichts werden die Daten mithilfe von Software analysiert. Zur Meldung von Ergebnissen mit CE IVD- und FDA-zugelassenen Sensititre-Produkten dürfen nur von Sensititre unterstützte Instrumente, d.h. eine einfache Spiegelbetrachtungsoptik, Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader, Optiread und ARIS verwendet werden; andere verwendete Systeme werden nicht unterstützt.

GPID Platte Layout

	1	2	3	4
A	<u>Harnstoff*</u> (13g/L)	Esulin (0.02g/L)	Arginin (10g/L)	β-D-Galactopyranosid MU (0.1g/L) FR13
B	β-D-Ribofuranosid MU(0.11g/L) FR16	Rhamnose (9g/L)	Alanin AMC (0.04g/L) FR15	Mannitol (9g/L)
C	β-D-Glucopyranosid MU (0.1g/L) FR14	Trehalose (9g/L)	D-Alanin AMC (0.05g/L) FR17	Maltose (9g/L)
D	β-D-Mannopyranosid MU (0.07g/L) FR18	Ornithin AMC (0.05g/L) FR19	Arginine AMC (0.05g/L) FR20	β-D-Glucuronid MU (0.1g/L) FR21

E	α -D-Glucopyranosid MU (0.1g/L) FR22	Cystein AMC (0.05g/L) FR23	Glycerol (10g/L)	Threonin AMC (0.05g/L) FR24
F	Methionin AMC (0.05g/L) FR25	Glucose (9g/L)	Sucrose (9g/L)	Proline AMC (0.05g/L) FR26
G	Serin AMC (0.05g/L) FR27	β -Methyl Glucosid (9g/L)	Citrulin AMC (0.05g/L) FR28	Pyroglutamat AMC (0.05g/L) FR29
H	Sorbitol (9g/L)	Tyrosin AMC (0.05g/L) FR30	Leucin AMC (0.05g/L) FR31	Valin AMC (0.05g/L) FR32

*Harnstofftest mit sterilem Mineralöl überschichtet.

1. Zuckerfermentierungstests

Glucose, Glycerol, Maltose, Mannitol, B-Methylglucosid, Rhamnose, Sucrose, Sorbitol, Trehalose. Die Säurereproduktion verringert die Fluoreszenz eines pH-empfindlichen Fluorophors.

2. Fluorogenische Substrattests

Ein Enzymsubstrat steht mit einem Fluorophor in Verbindung, das die Fluoreszenz beseitigt. Eine enzymatische Spaltung der Verbindung setzt das Fluorophor frei, das zur Erzeugung von Fluoreszenz fähig ist. Die Tests sind **FR13** bis **FR32** auf dem Plattentest-Layout.

3. Andere spezifische Tests

Harnstoff- und Arginin-Hydrolyse erhöhen den pH und die Fluoreszenz.

Esculin ist ein fluoreszierendes Molekül, das nach Hydrolyse in Bestandteile zerfällt, die nicht fluoreszieren.

DIE DATENBANK

Die Sensititre® GPID Taxonliste ist in Anhang 1 dargestellt. Sie wurde auf der Grundlage von Tests von mehr als zweitausend Stämmen entwickelt. Wenn Spezies als heterogen bekannt waren, wurden große Anzahlen von Stämmen aus so vielen Quellen wie möglich getestet. Umweltverschmutzende Mittel wurden mit einbezogen, um die Möglichkeit zu vermeiden, dass sie fälschlich als pathogene Organismen identifiziert werden.

VORSICHTSMAßNAHMEN

Diese Platten sind ausschließlich für den in-vitro-Gebrauch vorgesehen. Dieses Gerät darf ausschließlich von Personal mit der entsprechenden Ausbildung in Mikrobiologie verwendet werden.

Da lebende Mikroorganismen, die mit diesem Produkt verwendet werden, für den Benutzer infektiös sein können, sollten geeignete Handhabungs- und Entsorgungspraktiken angewendet werden.

LAGERUNG UND LEBENDAUER

Die Platten sollten bei Raumtemperatur (15-25°C) gelagert und vor direkter Sonneneinstrahlung und direkter Hitzeeinwirkung geschützt werden. Jede Platte ist zusammen mit einem Kieselgel-Trocknungsmittel in Folie verpackt. Falls das Verfallsdatum überschritten ist oder das Trocknungsmittel keine blau oder Orange Farbe aufweist oder die Folienverpackung beschädigt ist, darf die Platte nicht verwendet werden.

Platte innerhalb 5 Stunden nach öffnen der Folienverpackung inokulieren

VERFAHREN

Im Lieferumfang enthaltene Materialien:

GPID-Platten, 10 pro Kasten (ausreichend für den Test von 30 Isolaten)
Selbstklebender Verschluss

Materialien, die erforderlich, aber nicht mitgeliefert sind [TREK Produktkode]:

Sensititre® demineralisiertes Wasser [T3339]

Mineralöl

Katalase-Reagenz

Hippurat-Reagenz

Optochin-empfindliche Scheiben

Koagulase-Reagenz

Oxidase-Reagenz

Ornithin-Reagenz

Sensititre® Dosierköpfe (zur Verwendung mit AutoInoculator®/AIM®) [E3010]

Sensititre AutoInoculator®/AIM® [V3010/V3020]

Sensititre AutoReader®/OptiRead® oder ARIS® [V3029/V3030 or V3090]

Sensititre Vizion® [V2021]

Sensititre Nephelometer® [V3011]

0.5 McFarland-Trübungsstandard [E1041]

Inokulier-Loops (Ösen)

50ul-Pipette und Einwegspitzen

Qualitätskontrollstämme

Blut-Agarplatten (5% Schafblut)

Inkubator 34-36°C, Nicht-CO₂

Vortex-Mixer

Wattetupfer

PRÄPARATSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

Präparate sollten gesammelt, transportiert, gelagert und danach auf das unselektive Blut gegeben werden, um gut isolierte Kolonien mithilfe von Standardverfahren zu erzeugen.

INOKULATIONSVERFAHREN

Hinweis: Es ist wichtig, dass das Inokulum aus einer frischen Übernachtkultur vorbereitet wird.

1. 3-5 Kolonien aus der frischen, primären Agarplatte entnehmen, in steriles Wasser emulgieren und visuell oder mithilfe des Sensititre® Trübungsmessers an einen 0.5 McFarland-Standard anpassen. Gut vermischen.
 2. 50µl in jedes Well des entsprechenden Abschnitts der Identifizierungsplatte geben. Dazu stehen zwei Methoden zur Auswahl:
 - a. Sensititre AutoInoculator®/AIM® Die Verschlusskappe des Röhrchens durch einen Sensititre® Einwegdosierkopf ersetzen und die Platte gemäß den AutoInoculator®-Anweisungen inokulieren, oder
 - b. Manuelle Pipette verwenden. Die Bouillon in einen sterilen Keimtrog geben und die Platte mithilfe einer entsprechenden Pipette inokulieren.
- Die Suspension innerhalb von 60 Minuten in die Platte inokulieren.

3. Unmittelbar nach der Inokulierung muss Mineralöl in die Wells 1A, 5A und 9A gegeben werden. Sicherstellen, dass der Inhalt der Wells vollständig mit dem Öl bedeckt ist. Das Mineralöl kann ebenfalls mithilfe des Sensititre Autolnocular® /AIM® eingefüllt werden.
4. Alle Wells mit dem selbstklebenden Verschluss versiegen.
- 5 Es ist empfehlenswert, eine Reinheitsüberprüfung durchzuführen. Richten Sie zu diesem Zweck eine Kultivierung der Bakteriensuspension auf einer Blut-Agarplatte ein.

INKUBATION

Die Platten müssen bei 34-36°C 18 oder 24 Stunden lang im Sensititre ARIS® oder in einem Offline-Inkubator inkubiert werden. Es können bis zu drei Platten gestapelt werden.

Platten, die nach einer Inkubationsdauer von 18 Stunden abgelesen werden und KEINE ID anzeigen, können bis auf volle 24 Stunden weiter inkubiert und anschließend erneut abgelesen werden.

ABLESEN DER TESTERGEBNISSE

Vor dem Ablesen braucht kein Reagenz hinzugefügt werden. Die Platten können nur automatisch mithilfe des Sensititre AutoReader®/OptiRead® oder ARIS® abgelesen werden. Um weitere Details zu erhalten, lesen Sie bitte im entsprechenden Benutzerhandbuch nach.

BERECHNUNG DER IDENTIFIZIERUNG

Fluoreszenzzählungen der Medien werden mit dem entsprechenden Testabbruch verglichen, um eine positive oder negative Reaktion zu erzeugen. Das Reaktionsmuster wird in einen Biokode umgewandelt, der mit gespeicherten Biokodes verglichen und ebenfalls dazu verwendet wird, eine Wilcox-Wahrscheinlichkeit und damit die Organismusidentifizierung zu bestimmen.

BERICHTE

Eine Identifizierung, die mittels GPID erzeugt worden ist, überschreibt jegliche bestehende Identifizierung.

Lesen Sie die Sensititre® Softwareanweisungen durch, um weitere Informationen zu erhalten. Nachdem klinische Details berücksichtigt worden sind, kann eine vom System erzeugte Identifizierung durch manuelles Editieren geändert werden.

Edit+/- String (nur für Sensititre® Windows-Software)

Es können einzelne Testergebnisse dargestellt werden. Die Ergebnisse in der Nähe des Testabbruchs werden hervorgehoben und können geändert werden. Damit wird eine erneute Berechnung eingeleitet. Bitte lesen Sie in den Sensititre® Softwareanweisungen nach, um weitere Details zu erfahren.

INTERPRETATIONSRICHTLINIEN

Hervorragend

Es gibt wenige oder keine Tests gegen die Identifizierung und eine zweite Wahl ist extrem unwahrscheinlich.

Gut

Es gibt wenige Tests gegen die Identifizierung.

Akzeptabel	Es gibt wenige Tests gegen die erste Wahl für die Identifizierung und eine zweite und dritte Wahl sind möglich aber unwahrscheinlich.
Geringe Selektivität	Die Identifizierung ist wahrscheinlich die erste, zweite oder dritte Wahl. Es kann sein, dass zusätzliche Tests erforderlich sind, um die Spezies voneinander abzugrenzen.
Gruppen-ID.	Die Identifizierung erfolgt für das Genus, wobei die wahrscheinlichsten Identifizierungen zusammen mit der Gruppe aufgeführt werden.
Keine ID wahrscheinlich	Das Datenmuster ist atypisch und korrespondiert mit keinem Taxon in der Datenbank. Dies weist auf folgende Möglichkeiten hin: Mischkultur, ernstlich beschädigter Stamm, niedrige Inokula, Kalibrierungsfehler, unklassifizierte Taxa oder Taxa, die nicht in der Datenbank enthalten sind.

Tests gegen die Identifikation

Testergebnisse, die für die Taxa mit den höchsten Ergebnissen ungewöhnlich sind, werden hervorgehoben. Diese Informationen können als Anzeige für eine Kontamination oder für das Vorhandensein eines seltenen Biotyps nützlich sein.

Wiederholtes Auftreten eines bestimmten Tests gegen die Identifizierung für viele unterschiedliche Spezies deutet entweder auf Handhabungsprobleme oder Plattenfehler hin.

ZUSÄTZLICHE TESTS

Kunden, die Sensititre® für Windows-Software verwenden, haben die Wahl, Ergebnisse von Offline-Tests für Katalase, α -Hämolyse, β -Hämolyse, Hippuaret, Optochin, Koagulase, Oxidase, Gelbes Pigment oder Ornithin jederzeit während der Einrichtung der Platten einzugeben.

Zusätzlich fordert die Sensititre® Software automatisch zusätzliche Testergebnisse an, die bei der Auflösung unklarer Identifizierungen hilfreich sein könnten. Die Eingabe von zusätzlichen Testergebnissen führt dazu, dass das System eine erneute Berechnung vornimmt und die neue Identifizierung zwecks Überprüfung darstellt. Der Benutzer kann die neue Identifizierung, die mithilfe der Eingabe zusätzlicher Testergebnisse erzeugt wurde, annehmen, eine Entscheidung aufgrund weiterer Offline-Arbeit (z.B. Serologie) verschieben oder mit einem einfachen Befehl zu der ursprünglichen, vom System erstellten, Identifizierung zurückkehren.

Oxidase

Der Test muss nach den Anweisungen des Herstellers für das verwendete Produkt durchgeführt werden.

Katalase

Einen Tropfen 3% Wasserstoffperoxid auf einen Objektträger geben, der eine schwere Suspension des Organismus enthält. Das Auftreten von Blasen deutet auf ein positives Ergebnis hin. Der Test wird zur Unterscheidung zwischen *Streptococcus* (-) und *Micrococcus* (+) oder *Staphylococcus* (+) und *Listeria* (+) oder *Corynebacteria* (+) und *Erysipelothrax* (-) verwendet.

Koagulase

Es stehen viele handelsübliche Kits zur Verfügung, um einen sofortigen Stichprobentest durchzuführen. Der Test wird verwendet, um *S. aureus* (+) von Koagulase-negativen Staphylokokken wie beispielsweise *S. epidermidis* zu unterscheiden.

Alpha- und Beta-Hämolyse

α -Hämolyse ist eine grüne/braune Zone, die eine Kolonie auf einer Blut-Agarplatte umgibt, während β -Hämolyse sich als klare Zone um die Kolonie herum abzeichnet. Beide Fälle entstehen aufgrund der Zersetzung des Blutes. Dieser Test ist nützlich, um Streptokokken zu unterscheiden: *S. pyogenes* ist β -hämolysatisch, orale Streptokokken sind nicht β -hämolysatisch; *S. pneumoniae* ist α -hämolysatisch während *S. agalactiae* gewöhnlich β -hämolysatisch ist. Hämolyseergebnisse für *Enterococcus* spp. müssen von Pferdeblutagar gewonnen werden.

Empfindlichkeit auf Optochin

Dieser Test erfordert eine Inkubation über Nacht. Eine standardisierte Papierscheibe, die Optochin enthält, wird auf einer entsprechenden Agarplatte mit der Testkultur inkuliert. Daraufhin wird die Platte über Nacht inkubiert. Im Gegensatz zu anderen Streptokokken zeigt *S. pneumoniae* eine Behinderungszone von ≥ 14 mm auf.

Hippurat-Hydrolyse

Eine Suspension eines Organismus wird entsprechend den Anweisungen des Herstellers in ein handelsüblich vorbereitetes Röhrchen mit Hippurat inkuliert. Die Suspension wird verwendet, um β -hämolysische Streptokokken der Gruppe B (*S. agalactiae*), die positive sind, von β -hämolysischen Streptokokken der Gruppe A (*S. pyogenes*) zu unterscheiden.

Ornithin

Dieser Test muss nach den Herstelleranweisungen des verwendeten Produkts durchgeführt werden. Der Ornithin-Test ist insbesondere geeignet für die Unterscheidung von *Staphylococcus lugdunensis* (+) von den meisten anderen Staphylokokken.

Gelbes Pigment

Dieser Test kann zur Differenzierung von *Enterococcus casseliflavus* eingesetzt werden, der gelbes Pigment produziert. Das Pigment wird durch Sammeln mehrerer Kolonien mit einem Wattetupfer vom Reinigungsausstrich sichtbar.

Quinupristin- / Dalfopristin-Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeitsergebnisse für Quinupristin / Dalfopristin können behilflich sein bei der Unterscheidung von *Enterococcus faecalis*, die normalerweise resistent sind (MIC >4 μ g/ml), und *Enterococcus faecium*, die normalerweise empfindlich sind.

TABELLE I: Differenzierung der *Listeria*-Spezies

Die folgenden Tests werden empfohlen:

	β -Hämolyse	Rhamnose	Xylose	CAMP Staph/Rhodo
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	+/-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	+	-/+
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-/-
<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-/-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	+	+/-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	-/-

TABELLE 2:Differenzierung der Gruppe *Staphylococcus hominis/saprophyticus/warneri*

Die folgenden zusätzlichen Tests können verwendet werden:

	Novobiocin Agardiffusion	Anaerobes Wachstum in Thioglycollat Bouillon
<i>Staphylococcus hominis</i>	Empfindlich	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Resistent	(+) verzögerte Reaktion
<i>Staphylococcus warneri</i>	Empfindlich	+

LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistung der Sensititre® GPID-grampositiven Identifizierungsplatte wurde in Auswertungen in mehreren klinischen Labors im Vergleich zu einem anderen, gegenwärtig im Handel erhältlichen Identifizierungssystem nachgewiesen. Die folgenden Übereinstimmungsraten wurden festgestellt: 91% bis 100% für Enterokokken-Spezies, 94,1% bis 100% für Staphylokokken-Spezies und 91,5% bis 100% für Streptokokken-Spezies.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die folgenden Organismen werden für eine unabhängige Laborauswertung empfohlen:

<i>Kocuria rosea</i> (<i>Micrococcus roseus</i>)	ATCC 186
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27583
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 700296

Es wurden Qualitätskontroll-Isolate ausgewählt, um für jeden Test eine positive und negative Reaktion zu erhalten. Zwei gramnegative Organismen wurden eingeschlossen. Sie wurden aus den folgenden Gründen ausgewählt: Sie erzeugen ein einzigartiges Muster nützlicher positiver / negativer Reaktionen, sie sind leichter zu pflegen als alternative grampositive

Organismen oder sind bereits als Qualitätskontroll-Isolate für andere routinemäßige Laborverfahren, wie beispielsweise antimikrobielle Empfindlichkeitstests, vorhanden. Die Verwendung von gramnegativen Isolaten für die Qualitätskontrolle dieses Produkts ist angemessen, da das Sensititre® GPIP-Produkt auf der Grundlage des Nachweises vorgeformter Enzyme arbeitet, die in Zellsuspensionen ohne Wachstum vorkommen. Solche enzymatischen Reaktionen sind vom Zelltyp unabhängig.

Hinweis: Qualitätskontroll-Organismen werden ausgewählt, um eine positive / negative Reaktion für alle Tests bereitzustellen. Die Identifizierungen von Organismen können von denjenigen in der Qualitätskontrolltabelle abweichen. Die Akzeptanz der Produktleistung sollte durch einen Vergleich der Testergebnisse - und nicht durch Identifizierung - bestimmt werden.

Diejenigen Reaktionen, die als POS oder NEG ausgedrückt sind, stellen die erforderlichen Anzeigen dar, die eine Platte benötigt, um die Qualitätskontrolle zu passieren. Die restlichen Reaktionen, die als +, -, (+) oder (-) aufgeführt sind, stellen erwartete Reaktionen dar. Sie dienen ausschließlich zur Information und werden nicht für die Qualitätskontrolle verlangt.

TABELLE 3a: Erwartete Ergebnisse für empfohlene Qualitätskontroll-Organismen – 18hr

Substrat	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Urea	-	NEG	POS	(-)	(+)
FR16	NEG	POS	+	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
Sorbitol	(-)	POS	-	(+)	N
Esculin	NEG	POS	-	-	-
Rhamnose	NEG	-	-	POS	-
Trehalose	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	-	+	N
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)
Glucose	NEG	POS	+	+	(+)
β-methyl-glucoside	NEG	POS	(-)	(-)	-
FR30	(+)	POS	NEG	(+)	+
Arginine	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	(-)	N	(-)	(-)
FR20	(+)	(-)	NEG	POS	+
Glycerol	(-)	POS	(+)	+	NEG
Sucrose	NEG	POS	+	-	-
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
Mannitol	(-)	POS	NEG	+	N
Maltose	NEG	POS	(+)	+	-

FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	(-)	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	(+)	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

TABELLE 3b: Erwartete Ergebnisse für empfohlene Qualitätskontroll-Organismen – 24hr

Substrat	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Urea	-	NEG	POS	-	+
FR16	NEG	(+)	POS	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
Sorbitol	(-)	POS	NEG	+	-
Esculin	NEG	POS	-	-	-
Rhamnose	NEG	-	-	POS	-
Trehalose	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	NEG	+	(-)
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)
Glucose	NEG	POS	+	+	(+)
β-methyl-glucoside	NEG	POS	-	(-)	-
FR30	(+)	POS	NEG	+	(+)
Arginine	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	NEG	-	-	(-)
FR20	(+)	-	NEG	POS	+
Glycerol	(-)	POS	+	+	NEG
Sucrose	NEG	POS	+	-	-
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
Mannitol	(-)	POS	NEG	+	-
Maltose	NEG	POS	+	+	-
FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	-	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	+	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

POS = positive Kontrolle für das angezeigte Substrat

NEG = negative Kontrolle für das angezeigte Substrat

+= positiv

-= negativ

(+) = Variabel: gewöhnlich positiv, kann aber manchmal negativ sein

(-) = Variabel: gewöhnlich negativ, kann aber manchmal positiv sein

Falls die Diskrepanzen bezüglich der Qualitätskontrolle nicht zufriedenstellend gelöst werden können, wenden Sie sich bitte an Ihren Sensititre® Händler oder an TREK Diagnostic Systems.

ANHANG 1: Organismen, die in den GPID Identifizierungsdatenbanken enthalten sind

<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp <i>aureus</i>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp <i>capitis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Corynebacterium species</i>	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp <i>hominis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp <i>saprophyticus</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp <i>constellatus</i>
<i>Kocuria rosea</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp <i>equisimilis</i>
<i>Kocuria species</i>	<i>Streptococcus group G</i>
<i>Kytococcus species</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Listeria innocua</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Listeria species</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Micrococcus species</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Rhodococcus equii</i>	<i>Streptococcus uberis</i>

EINSCHRÄNKUNGEN

1. GPID-Platten können nicht manuell abgelesen werden
2. GPID-Platten gestatten eine automatisierte Identifizierung derjenigen grampositiven Taxa, die in der Sensititre® Datenbank enthalten sind (Anhang 1). Die Reaktionen, die von den Mitgliedern anderer Bakterienspezies erzeugt wurden, führen zu keinem korrekten Ergebnis.
3. GPID-Identifizierungen sind nur für grampositive Isolate gültig, die auf Blut-Agarplatten gezüchtet wurden.
4. Die endgültige Interpretation muss dem Mikrobiologen überlassen werden und es kann sein, dass zusätzliche Tests benötigt werden, um die Identität des Testorganismus zu bestätigen. Für das endgültige Ergebnis können viele andere Faktoren in Erwägung gezogen werden, einschließlich Quelle des Präparats, Krankengeschichte des Patienten, Koloniemorphologie und mikroskopische Morphologie, Gramstammergebnisse, Motilität, Serologie und antimikrobielle Empfindlichkeitsmuster.

LITERATUR

1. Kelly, T; Knapp, C; Jenkins, S; Mulholland, P; Gilligan, P; and Rodgers, E. (1998). Comparative evaluation of the new Sensititre® AP90 gram positive identification system to the Vitek GPI test card. *American Society of Microbiology*. Abstract C4.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS

Die in diesem technischen Merkblatt enthaltenen Informationen sind zum Zeitpunkt der Drucklegung aktuell und können sich jederzeit ändern.

Die neuesten Informationen können vom www.trekds.com\techinfo oder durch in Verbindung tretende technische Dienstleistungen des TREK downloadet werden. Übersetzt werden



Hergestellt von TREK Diagnostic Systems
Units 17-19 Birches Industrial Estate, East Grinstead,
West Sussex, RH19 1XZ, UK
Tel: +44-1342-318777

Vertrieb durch TREK Diagnostic Systems
982 Keynote Circle, Suite 6, Cleveland, Ohio 44131
Kundendienst USA 1 (800) 642-7029



GPID_D_V1.6
Date Updated: 10 January 2014



ΠΛΑΚΑ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ GPID SENSITITRE® ΓΙΑ GRAM ΘΕΤΙΚΟΥΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

18 ή 24 ώρες
Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

Για λεπτομερές πληροφορίες σχετικά με τις πλάκες, συμπεριλαμβανομένης της διάταξης των πλακών, επισκεφτείτε την ιστοσελίδα www.trekds.com/techinfo. Απαιτείται ο κωδικός πλάκας και ο αριθμός παρτίδας.

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Η πλάκα GPID Sensititre® είναι ένα *in vitro* διαγνωστικό προϊόν για την αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των Gram θετικών βακτηριδίων.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ:

Κάθε πλάκα GNID (GPID) περιέχει τρία τμήματα, καθένα από τα οποία περιλαμβάνει 32 αποξηραμένες βιοχημικές εξετάσεις. Οι εξετάσεις περιλαμβάνουν κλασικά βιοχημικά υλικά, αναδιαμορφωμένα για φθορισμομετρική ανάγνωση, και εξετάσεις που χρησιμοποιούν φθορισμογόνα υποστρώματα. Οι πλάκες επωάζονται στους 34-36 °C και η ανάγνωσή τους πρέπει να γίνεται μετά από 18 ή 24 ώρες στο Sensititre AutoReader® /OptiRead® ή ARIS® για την παρουσία ή την απουσία φθορισμού. Τα δεδομένα αναλύονται με λογισμικό για αναφορά. Μόνο τα όργανα που υποστηρίζει η Sensititre π.χ. το απλό εικονοσκόπιο με καθρέφτη, τα Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader, Optiread και ARIS θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για την έκθεση αποτελεσμάτων με προϊόντα Sensititre που έχουν έγκριση CE IVD και FDA, εάν χρησιμοποιηθεί οποιοδήποτε άλλο σύστημα δεν θα υπάρχει υποστήριξη.

Διάταξη πλάκας GPID

	1	2	3	4
A	<u>Ουρία*</u> (13g/L)	εσκουλίνη (0.02g/L)	αργινίνη (10g/L)	β-D-γαλακτοπυρανοζίτης MU (0.1g/L) FR13

B	B-D-ριβοφουρανοζίτης MU (0.11g/L) FR16	ραμνόζη (9g/L)	αλανίνη AMC (0.04g/L)	FR15	μαννιτόλη (9g/L)
C	B-D-γλυκοπυρανοζίτης MU (0.1g/L) FR 14	τρεχαλόζη (9g/L)	D-αλανίνη AMC (0.05g/L)	FR17	μαλτόζη (9g/L)
D	B-D-μαννοπυρανοζίτης MU (0.07g/L) FR18	ορνιθίνη AMC (0.05g/L) FR19	αργινίνη AMC (0.05g/L)	FR20	B-D-γλυκουρονίδη MU (0.1g/L) FR21
E	α-D-γλυκοπυρανοζίτης MU (0.1g/L) FR22	κυστεΐνη AMC (0.05g/L)	γλυκερόλη (10g/L)		θρεολίνη AMC (0.05g/L) FR24
F	Μεθειονίνη AMC (0.05g/L) FR25	γλυκόζη (9g/L)	σακχαρόζη (9g/L)		προλίνη AMC (0.05g/L) FR26
G	σερίνη AMC (0.05g/L) FR27	β-μεθυλογλυκοζίτης (9g/L)	Κιτρουλλίνη AMC (0.05g/L)	FR28	πυρογλουταμικό AMC (0.05g/L) FR29
H	σορβιτόλη (9g/L)	τυροσίνη AMC (0.05g/L)	λευκίνη AMC (0.05g/L)	FR30	FR31
					βαλίνη AMC (0.05g/L) FR32

*Η εξέταση ουρίας απαιτεί επίστρωση στείρου ορυκτέλαιου.

1. Εξετάσεις ζύμωσης σακχάρου

γλυκόζη, γλυκερόλη, Β-μεθυλογλυκοζίτης, ραμνόζη. Η παραγωγή οξέος μειώνει το φθορισμό μιας ευαίσθητης στο pH φθορισμοφόρου ομάδας.

2. Εξετάσεις φθορισμογόνων υποστρωμάτων

Ένα ενζυμικό υπόστρωμα συνδέεται σε μια φθορισμοφόρο ομάδα, η οποία εξαλείφει το φθορισμό. Η ενζυμική διάσπαση της σύνδεσης απελευθερώνει τη φθορισμοφόρο ομάδα, η οποία διαθέτει ικανότητα φθορισμού. Οι εξετάσεις είναι **FR13** έως **FR32** στη διάταξη της εξέτασης πλάκας.

3. Άλλες ειδικές εξετάσεις

Η υδρόλυση της ουρίας και της αργινίνης αυξάνει το pH και το φθορισμό

Η εσκουλίνη είναι ένα φθορίζον μόριο, το οποίο όταν υδρολύεται, διασπάται σε μη φθορίζοντα προϊόντα.

Η ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Η λίστα τάξεων GPID Sensititre® παρουσιάζεται στο παράρτημα 1 και αναπτύχθηκε με εξετάσεις που πραγματοποιήθηκαν σε δύο χιλιάδες στελέχη. Όπου τα είδη ήταν γνωστό ότι είναι ετερογενή, εξετάστηκαν μεγάλοι αριθμοί στελεχών από όσο το δυνατό περισσότερες πηγές.

Συμπεριελήφθησαν μολυσματικές ουσίες του περιβάλλοντος για την αποφυγή της πιθανότητας εσφαλμένης ερμηνείας τους ως παθογόνους μικροοργανισμούς.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Οι πλάκες αυτές προορίζονται για *in vitro* χρήση μόνο. Η συσκευή αυτή προορίζεται για χρήση μόνον από προσωπικό με κατάλληλη εκπαίδευση στη μικροβιολογία.

Επειδή οι ζώντες μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται με αυτό το προϊόν μπορεί να λοιμώδεις στον χρήστη, θα πρέπει να γίνεται ο κατάλληλος χειρισμός και να ακολουθούνται οι κατάλληλες μέθοδοι απόρριψης.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Οι πλάκες πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (15-25 °C) μακριά από άμεσο ηλιακό φως και άμεσες πηγές θερμότητας. Κάθε πλάκα συσκευάζεται σε λεπτό φύλλο με αποξηραντικό υλικό σίλικα ζελ. Μη χρησιμοποιείτε την πλάκα εάν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης της, εάν το χρώμα του αποξηραντικού υλικού δεν είναι μπλε ή πορτοκάλι ή εάν η θήκη από λεπτό φύλλο έχει υποστεί ζημιά.

Ενοφθαλμίστε την πλάκα εντός 5 ωρών από την αφαίρεση από τη θήκη.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενα Υλικά

Πλάκες GPID, 10/κουτί (επαρκείς για την εξέταση 30 απομονωμένων στελεχών)
Αυτοκόλλητη σφράγιση

Μη παρεχόμενα Υλικά [κώδικας προϊόντων]:

Απιοντισμένο νερό Sensititre® [T3339]

Ορυκτέλαιο

Αντιδραστήριο καταλάσης

Αντιδραστήριο ιππουρικού

Δίσκοι ευαισθησίας οπτοχίνης

Αντιδραστήριο κοαγκουλάσης

Αντιδραστήριο οξειδάσης

Αντιδραστήριο Ορνιθίνη

Περιέκτες Sensititre® (για χρήση με το Autolnocolator® / AIM®) [E3010]

Sensititre Autolnocolator® / AIM®[V3010/V3020]

Sensititre AutoReader® OptiRead® ή ARIS® [V3029/V3030 ή V3090]

Sensititre Vizion® [V2021]

Sensititre Nephelometer® [V3011]

Πρότυπο θολερότητας McFarland 0,5 [E1041]

Κρίκοι ενοφθαλμισμού

Σύστημα πιπετών των 50 μl και αναλώσιμα ρύγχη

Στελέχη ποιοτικού ελέγχου

Πλάκες αιματούχου άγαρ (με αίμα προβάτου 5%)

Θάλαμος επώασης 34-36 °C, χωρίς CO₂

Αναμείκτης περιδίνησης

βαμβακοφόρο στειλεό

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Τα δείγματα πρέπει να συλλέγονται, να μεταφέρονται, να φυλάσσονται και κατόπιν να επιστρώνονται σε πλάκες πάνω σε μη εκλεκτικό αιματούχο άγαρ, για το σχηματισμό καλά απομονωμένων αποικιών, με χρήση πρότυπων διαδικασιών.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ

Σημείωση: Είναι σημαντικό να παρασκευάζεται ενοφθάλμισμα από φρέσκια ολονύκτια καλλιέργεια.

1. Επιλέξτε 3-5 αποικίες από μια πλάκα φρέσκου πρωτογενούς άγαρ, γαλακτωματοποιήστε σε στείρο νερό και ρυθμίστε σε πρότυπο McFarland 0,5 οπτικά ή με χρήση του νεφελόμετρου Sensititre®. Αναμείξτε καλά.
2. Διανείμετε 50 μL σε κάθε υποδοχή του κατάλληλου τμήματος της πλάκας ταυτοποίησης με οποιαδήποτε από τις παρακάτω δύο μεθόδους:
 - α. Sensititre Autolnocolator® / AIM®. Αντικαταστήστε το πώμα του σωληναρίου με έναν περιέκτη Sensititre® μίας χρήσης και ενοφθαλμίστε την πλάκα σύμφωνα με τις οδηγίες του Autolnocolator® / AIM®. Ή
 - β. Χειροκίνητη πιπέτα. Εκχύστε το ζωμό σε ένα στείρο δοχείο εμβολιασμού και ενοφθαλμίστε την πλάκα με χρήση κατάλληλης πιπέτας.

Ενοφθαλμίστε το εναιώρημα στην πλάκα εντός 60 λεπτών.

3. Προσθέστε ορυκτέλαιο αμέσως μετά τον ενοφθαλμισμό στις υποδοχές, 1A, 5A και 9A, διασφαλίζοντας ότι το περιεχόμενο των υποδοχών είναι εντελώς καλυμμένο με έλαιο. Το ορυκτέλαιο είναι δυνατόν επίσης να διανεμηθεί με χρήση του Sensititre Autolnocolator® / AIM®.
4. Καλύψτε όλες τις υποδοχές με την αυτοκόλλητη σφράγιση.
5. Συνιστάται η εκτέλεση ενός ελέγχου καθαρότητας με καλλιέργεια του εναιωρήματος βακτηριδίων πάνω σε μια πλάκα αιματούχου άγαρ.

ΕΠΩΑΣΗ

Επωάστε τις πλάκες στους 34-36 °C επί 18 ή 24 ώρες στο Sensititre ARIS® ή σε εξωτερικό θάλαμο επώασης. Είναι δυνατό να στοιβαχθούν έως 3 πλάκες η μία πάνω στην άλλη.

Οι πλάκες των οποίων η ανάγνωση γίνεται μετά από 18 ώρες επώασης και οποίες ΔΕ δίνουν ταυτοποίηση (ID) είναι δυνατό να επωαστούν έως 24 ώρες και να επαναληφθεί η ανάγνωσή τους.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ

Δεν είναι απαραίτητη προσθήκη αντίδραστηρίου πριν από την ανάγνωση. Η ανάγνωση των πλακών είναι δυνατό να γίνει μόνον αυτόματα με χρήση του Sensititre AutoReader® / OptiRead® ή του ARIS®. Για λεπτομέρειες, ανατρέξτε στο κατάλληλο εγχειρίδιο χρήσης.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

Οι μετρήσεις φθορισμού των υλικών καλλιέργειας συγκρίνονται με την κατάλληλη τιμή αποκλεισμού της εξέτασης για τη δημιουργία θετικής ή αρνητικής αντίδρασης. Η μορφολογία αντίδρασης μετατρέπεται σε ένα βιοκωδικό, ο οποίος συγκρίνεται με αποθηκευμένους βιοκωδικούς και χρησιμοποιείται επίσης για τον προσδιορισμό μιας πιθανότητας Wilcoxon και

έτσι της ταυτοποίησης του μικροοργανισμού.

ΑΝΑΦΟΡΑ

Μία ταυτοποίηση που δημιουργείται από τις πλάκες GPID θα αντικαταστήσει οποιαδήποτε υπάρχουσα ταυτοποίηση.

Ανατρέξτε στις οδηγίες λογισμικού Sensititre® για περισσότερες πληροφορίες.

Αφού ληφθούν υπόψη τα κλινικά στοιχεία, μία ταυτοποίηση που δημιουργείται από το σύστημα είναι δυνατό να τροποποιηθεί με επεξεργασία με το χέρι.

Edit+/- string (λογισμικό Sensititre® για Windows μόνο)

Είναι δυνατό να εμφανιστούν αποτελέσματα επιμέρους εξετάσεων. Τα αποτελέσματα κοντά στην τιμή αποκλεισμού της εξέτασης επισημαίνονται και είναι δυνατό να αλλαχθούν, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τον εκ νέου υπολογισμό τους. Για περισσότερες λεπτομέρειες, ανατρέξτε στις οδηγίες του λογισμικού Sensititre®.

ΟΔΗΓΟΣ ΕΡΜΗΝΕΙΑΣ

Εξαιρετική	Η ταυτοποίηση έχει λίγες ή καθόλου εξετάσεις ενάντια και η δεύτερη εκλογή είναι εξαιρετικά απίθανη.
Καλή	Η ταυτοποίηση έχει λίγες εξετάσεις ενάντια.
Αποδεκτή	Η ταυτοποίηση έχει λίγες εξετάσεις ενάντια στην πρώτη εκλογή, η δεύτερη και η τρίτη εκλογή είναι δυνατές, αλλά παραμένουν απίθανες.

Χαμηλή εκλεκτικότητα

Η ταυτοποίηση είναι πιθανό να είναι η πρώτη, η δεύτερη ή η τρίτη εκλογή. Ενδέχεται να χρειαστούν επιπλέον εξετάσεις για το διαχωρισμό των ειδών.

Ταυτοποίηση ομάδας.

Η ταυτοποίηση ως προς το γένος, οι πλέον πιθανές ταυτοποίησεις παρατίθενται μαζιμάδα.

Καμία ταυτοποίηση πιθανή

Η μορφολογία των δεδομένων είναι ατυπική και δεν αντιστοιχεί σε οποιαδήποτε τάξη στην άση δεδομένων. Ενδεικτική μεικτής καλλιέργειας, σοβαρής βλάβης στελέχους, χαμηλής πιοσότητας ενοφθαλμισμάτων, σφάλμα βαθμονόμησης, μη ταξινομημένες τάξεις ή τάξεις που δε συμπεριλαμβάνονται στη βάση δεδομένων.

Εξετάσεις ενάντια

Αποτελέσματα εξετάσεων που είναι ασυνήθη για τις τάξεις στην κορυφή της βαθμολογίας επισημαίνονται. Οι πληροφορίες αυτές είναι δυνατό να είναι χρήσιμες ως δείκτης μόλυνσης ή της εμφάνισης ενός σπάνιου βιότυπου.

Η επανειλημμένη εμφάνιση μιας ορισμένης εξέτασης ενάντια για πολλά διαφορετικά είδη θα υποδείκνυε είτε προβλήματα χειρισμού είτε σφάλμα πλάκας.

ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Οι πελάτες που χρησιμοποιούν Sensititre® για λογισμικό Windows μπορούν να επιλέξουν την καταχώρηση αποτελεσμάτων των εξωτερικών εξετάσεων για καταλάση, α-αιμόλυση, β-

αιμόλυση, ιππουρικό, οπτοχίνη, κοαγκουλάση, οξειδάση, Κίτρινη Χρωστική Ουσία ή Ορνιθίνη οποιαδήποτε στιγμή κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας της πλάκας.

Επιπλέον, το λογισμικό Sensititre® θα ζητήσει αυτόματα επιπλέον αποτελέσματα εξέτασης, με τα οποία θα είναι δυνατή η επίλυση τυχόν μη οριστικών ταυτοποιήσεων. Με την καταχώρηση επιπλέον αποτελεσμάτων εξέτασης δίνεται εντολή στο σύστημα επανάληψης του υπολογισμού και εμφανίσης της νέας ταυτοποίησης για ανασκόπηση. Ο χρήστης είναι δυνατό να δεχθεί τη νέα ταυτοποίηση που δημιουργείται από την εισαγωγή επιπλέον αποτελεσμάτων εξέτασης, να καθυστερήσει μια απόφαση εν αναμονή περαιτέρω εξωτερικής εργασίας (π.χ. ορολογία) ή να επανέλθει στην αρχική ταυτοποίηση που δημιουργείται από το σύστημα με μια απλή εντολή.

Οξειδάση

Η εξέταση πρέπει να εκτελείται σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών για το προϊόν που χρησιμοποιείται.

Καταλάση

Προσθέστε μια σταγόνα υπεροξειδίου του υδρογόνου 3% σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα που περιέχει ένα πτυκνό εναιώρημα του μικροοργανισμού. Η απελευθέρωση φυσαλίδων υποδηλώνει θετικό αποτέλεσμα. Η εξέταση χρησιμοποιείται για τη διαφοροποίηση μεταξύ του *Streptococcus* (-) και του *Micrococcus* (+) ή μεταξύ του *Staphylococcus* (+) και του *Listeria* (+) ή μεταξύ του *Corynebacteria* (+) και του *Erysipelothrix* (-).

Κοαγκουλάση

Για την εκτέλεση άμεσης σημειακής εξέτασης διατίθενται πολλά κιτ του εμπορίου. Χρησιμοποιείται για τη διάκριση του *S. aureus* (+) από αρνητικούς στην κοαγκουλάση σταφυλόκοκκους, όπως ο *S. epidermidis*.

α- και β-αιμόλυση

Η α-αιμόλυση είναι μια πράσινη/καστανή ζώνη που περιβάλλει μια αποικία πάνω σε μια πλάκα αιματούχου άγαρ, ενώ η β-αιμόλυση εμφανίζεται ως μια διαυγής ζώνη που περιβάλλει την αποικία. Και οι δύο οφείλονται στη διάσπαση του αίματος. Η εξέταση είναι χρήσιμη για τη διαφοροποίηση των στρεπτόκοκκων: ο *S. pyogenes* είναι β-αιμολυτικός, οι στρεπτόκοκκοι της στοματικής κοιλότητας δεν είναι β-αιμολυτικοί, ο *S. pneumoniae* είναι α-αιμολυτικός ενώ ο *S. agalactiae* είναι συνήθως β-αιμολυτικός. Τα αποτελέσματα της αιμόλυσης για το *Enterococcus* spp. πρέπει να λαμβάνονται από αιματούχο άγαρ με αίμα αλόγου.

Ευαισθησία στην οπτοχίνη

Η εξέταση αυτή απαιτεί ολονύκτια επώαση. Ένας τυποποιημένος χάρτινος δίσκος που περιέχει οπτοχίνη τοποθετείται σε μια κατάλληλη πλάκα άγαρ ενοφθαλμισμένη με την καλλιέργεια εξέτασης. Η πλάκα κατόπιν επωάζεται ολονυκτίως. Ο *S. pneumoniae*, αντίθετα από τους άλλους στρεπτόκοκκους, εμφανίζει μια ζώνη αναστολής ≥ 14 mm.

Υδρόλυση ιππουρικού

Ένα εναιώρημα του μικροοργανισμού ενοφθαλμίζεται σε ένα παρασκευασμένο στο εμπόριο σωληνάριο ιππουρικού σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Χρησιμοποιείται για τη διαφοροποίηση των β-αιμολυτικών στρεπτόκοκκων της ομάδας B (*S. agalactiae*), οι οποίοι είναι θετικοί, από τους β-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους της ομάδας A (*S. pyogenes*).

Ορνιθίνη

Η εξέταση πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή για το χρησιμοποιηθέν προϊόν. Χρησιμεύει στη διάκριση του *Staphylococcus lugdunensis* (+) από τα περισσότερα άλλα είδη σταφυλόκοκκων.

Κίτρινη Χρωστική Ουσία

Η παρούσα εξέταση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να συμβάλλει στη διαφοροποίηση του *Enterococcus casseliflavus*, ο οποίος παράγει κίτρινη χρωστική ουσία. Η χρωστική ουσία μπορεί να παρατηρηθεί συλλέγοντας μερικές αποικίες από την καθαρή αντικειμενοφόρο πλάκα σε έναν βαμβακοφόρο στειλεό.

Ευαισθησία στην κινουπριστίνη/ νταλφοπριστίνη

Τα αποτελέσματα ευαισθησίας στην κινουπριστίνη/ νταλφοπριστίνη μπορούν να φανούν χρήσιμα για τη διάκριση μεταξύ του *Enterococcus faecalis*, το οποίο είναι συνήθως πιο ανθεκτικό ($MIC > 4 \mu\text{g/ml}$) και του *Enterococcus faecium*, το οποίο είναι συνήθως ευαίσθητο.

ΠΙΝΑΚΑΣ I: Διαφοροποίηση μεταξύ των ειδών *Listeria*

Συνιστώνται οι ακόλουθες εξετάσεις:

	β-αιμόλυση	Ραμνόζη	ξυλόζη	CAMP Staph/Rhodo
<i>L monocytogenes</i>	+	+	-	+/-
<i>L ivanovii</i>	+	-	+	-/+
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-/-
<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-/-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	+	+/-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	-/-

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Διαφοροποίηση μεταξύ των ειδών της ομάδας *Staphylococcus hominis/saprophyticus/warneri*

Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν οι ακόλουθες επιπλέον εξετάσεις:

	Ευαισθησία δίσκου νοβοβιοκίνης	Αναερόβια ανάπτυξη σε ζωμό θειογλυκολικού
<i>Staphylococcus hominis</i>	Ευαίσθητο	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Ανθεκτικό	(+) Καθυστερημένη αντίδραση
<i>Staphylococcus warneri</i>	Ευαίσθητο	+

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Η απόδοση της πλάκας ταυτοποίησης Gram θετικών GPIP Sensititre® έχει επιβεβαιωθεί σε αξιολογήσεις σε διάφορα κλινικά εργαστήρια σε σύγκριση με ένα τρέχον σύστημα ταυτοποίησης που διατίθεται στο εμπόριο. Παρατηρήθηκαν ποσοστά συμφωνίας 91–100% για είδη *Enterococcus*, 94,1 έως 100% για είδη *Staphylococcus* και 91,5 έως 100% για είδη *Streptococcus*.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Οι ακόλουθοι μικροοργανισμοί συνιστώνται για εκτίμηση από ανεξάρτητα εργαστήρια:

<i>Kocuria rosea</i> (<i>Micrococcus roseus</i>)	ATCC 186
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27583
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 700296

Τα απομονωμένα στελέχη ποιοτικού ελέγχου επιλέχθηκαν για να δίνουν θετική και αρνητική αντίδραση για κάθε εξέταση. Έχουν συμπεριληφθεί δύο Gram αρνητικοί μικροοργανισμοί. Επιλέχθηκαν επειδή είτε παρέχουν μια μοναδική μορφολογία χρήσιμων θετικών / αρνητικών αντιδράσεων, διατηρούνται πιο εύκολα από εναλλακτικούς Gram θετικούς μικροοργανισμούς, είτε συμπεριλαμβάνονται ήδη ως απομονωμένα στελέχη ποιοτικού ελέγχου για άλλες εργαστηριακές διαδικασίες ρουτίνας, όπως εξέταση ευαισθησίας σε αντιμικροβιακούς παράγοντες. Η χρήση Gram αρνητικών απομονωμένων στελεχών για ποιοτικό έλεγχο του προϊόντος αυτού είναι κατάλληλη επειδή το προϊόν Sensititre® GΠΙΔ βασίζεται στην ανίχνευση προσχηματισμένων ενζύμων που υπάρχουν σε εναιωρήματα μη αναπτυσσόμενων κυττάρων. Τέτοιου είδους ενζυμικές αντιδράσεις είναι ανεξάρτητες από τον κυτταρικό τύπο.

Σημείωση: Οι οργανισμοί ποιοτικού ελέγχου επιλέγονται για την παροχή θετικής / αρνητικής αντίδρασης για όλες τις εξετάσεις. Οι ταυτοποιήσεις μικροοργανισμών ενδέχεται να ποικίλουν από εκείνες που αναγράφονται στον πίνακα ποιοτικού ελέγχου. Η καταλληλότητα της απόδοσης των προϊόντων θα πρέπει να προσδιορίζεται με σύγκριση των αποτελεσμάτων της εξέτασης και όχι με ταυτοποίηση.

Για να περάσει με επιτυχία τον ποιοτικό έλεγχο μια πλάκα, εκείνες οι αντιδράσεις που εκφράζονται ως POS ή NEG είναι οι απαιτούμενοι δείκτες. Οι υπόλοιπες αντιδράσεις, που παρατίθενται ως +, -, (+), (-) είναι αναμενόμενες αντιδράσεις. Αυτές προορίζονται για πληροφόρηση και δεν απαιτούνται για ποιοτικό έλεγχο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3α: Αναμενόμενα αποτελέσματα για συνιστώμενους μικροοργανισμούς πτοιοτικού ελέγχου – 18hr

Substrate	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Ουρία	-	NEG	POS	(-)	(+)
FR16	NEG	POS	+	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
σορβιτόλη	(-)	POS	-	(+)	N
εσκουλίνη	NEG	POS	-	-	-
ραμνόζη	NEG	-	-	POS	-
τρεχαλόζη	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	-	+	N
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)
γλυκόζη	NEG	POS	+	+	(+)
β-μεθυλογλυκοζίτης	NEG	POS	(-)	(-)	-
FR30	(+)	POS	NEG	(+)	+
αργινίνη	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	(-)	N	(-)	(-)
FR20	(+)	(-)	NEG	POS	+
γλυκερόλη	(-)	POS	(+)	+	NEG
σακχαρόζη	NEG	POS	+	-	-
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
μαννιτόλη	(-)	POS	NEG	+	N
μαλτόζη	NEG	POS	(+)	+	-
FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	(-)	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	(+)	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

ΠΙΝΑΚΑΣ 3b: Αναμενόμενα αποτελέσματα για συνιστώμενους μικροοργανισμούς ποιοτικού ελέγχου – 24hr

Substrate	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Ουρία	-	NEG	POS	-	+
FR16	NEG	(+)	POS	+	+
FR14	NEG	POS	-	(-)	-
FR18	NEG	POS	-	-	-
FR22	(+)	POS	(+)	+	NEG
FR25	(+)	POS	NEG	+	+
FR27	(-)	POS	NEG	+	(-)
σορβιτόλη	(-)	POS	NEG	+	-
εσκουλίνη	NEG	POS	-	-	-
ραμνόζη	NEG	-	-	POS	-
τρεχαλόζη	NEG	POS	-	+	-
FR19	(-)	POS	NEG	+	(-)
FR23	(-)	POS	NEG	+	(+)
γλυκόζη	NEG	POS	+	+	(+)
β-μεθυλογλυκοζίτης	NEG	POS	-	(-)	-
FR30	(+)	POS	NEG	+	(+)
αργινίνη	NEG	POS	+	+	+
FR15	+	POS	NEG	+	+
FR17	POS	NEG	-	-	(-)
FR20	(+)	-	NEG	POS	+
γλυκερόλη	(-)	POS	+	+	NEG
σακχαρόζη	NEG	POS	+	-	-
FR28	NEG	POS	-	+	(+)
FR31	(-)	POS	NEG	+	+
FR13	NEG	(-)	(+)	POS	-
μαννιτόλη	(-)	POS	NEG	+	-
μαλτόζη	NEG	POS	+	+	-
FR21	-	NEG	-	POS	-
FR24	-	POS	NEG	+	(+)
FR26	(+)	NEG	-	+	POS
FR29	(-)	POS	NEG	-	+
FR32	(-)	-	NEG	POS	-

- POS = Θετικός έλεγχος για το υπόστρωμα που υποδεικνύεται
 NEG = Αρνητικός έλεγχος για το υπόστρωμα που υποδεικνύεται
 + = Θετικό
 - = Αρνητικό
 (+) = Μεταβλητό: συνήθως θετικό, αλλά ενδέχεται να είναι περιστασιακά αρνητικό
 (-) = Μεταβλητό: συνήθως αρνητικό, αλλά ενδέχεται να είναι περιστασιακά θετικό

Επικοινωνήστε με το διανομέα της Sensititre® ή με την TREK Diagnostic Systems σε περίπτωση που δεν είναι δυνατό να επιλυθούν τυχόν ασυμφωνίες ποιοτικού ελέγχου.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: Μικροοργανισμοί που συμπεριλαμβάνονται στις βάσεις δεδομένων ταυτοποίησης GPID

<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp <i>aureus</i>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp <i>capitis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Corynebacterium</i> species	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp <i>hominis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp <i>saprophyticus</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp <i>constellatus</i>
<i>Kocuria rosea</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp <i>equisimilis</i>
<i>Kocuria</i> species	<i>Streptococcus group G</i>
<i>Kytococcus</i> species	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Listeria innocua</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Listeria</i> species	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Micrococcus</i> species	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Rhodococcus equii</i>	<i>Streptococcus uberis</i>

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Δεν είναι δυνατή η ανάγνωση των πλακών GPID με μη αυτόματο τρόπο.
2. Οι πλάκες GPID επιτρέπουν την αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση εκείνων των Gram θετικών τάξεων που περιέχονται στη βάση δεδομένων Sensititre® (Παράρτημα 1). Οι αντιδράσεις που παράγονται από μέλη άλλων ειδών βακτηριδίων δε δίνουν σωστό αποτέλεσμα.
3. Οι ταυτοποιήσεις στην κάρτα **GPID** θα είναι έγκυρες μόνο για Gram θετικά απομονωμένα στελέχη που αναπτύσσονται σε πλάκες αιματούχου άγαρ.
4. Η τελική ερμηνεία πρέπει να επαφίεται στην κρίση του μικροβιολόγου και ενδέχεται να χρειαστούν επιπλέον εξετάσεις για την επιβεβαίωση της ταυτότητας του μικροοργανισμού της εξέτασης. Πολλοί άλλοι παράγοντες είναι δυνατό να ληφθούν υπόψη για τη λήψη του τελικού αποτελέσματος, συμπεριλαμβανομένης της πηγής του δείγματος, του ιστορικού του ασθενούς, της αποικιακής και της μικροσκοπικής μορφολογίας, των αποτελεσμάτων της χρώσης κατά Gram, της κινητικότητας, της ορολογίας και των μορφολογιών ευαισθησίας σε αντιμικροβιακούς παράγοντες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kelly, T; Knapp, C; Jenkins, S; Mulholland, P; Gilligan, P; and Rodgers, E. (1998). Comparative evaluation of the new Sensititre® AP90 gram positive identification system to the Vitek GPI test card. *American Society of Microbiology. Abstract C4.*

ΑΠΟΠΟΙΗΣΗ ΕΥΘΥΝΗΣ

Οι πληροφορίες που παρέχονται στο παρόν ένθετο τεχνικών οδηγιών είναι οι πιο πρόσφατες πληροφορίες κατά το χρόνο εκτύπωσης και ενδέχεται να τροποποιηθούν χωρίς ειδοποίηση.

Οι πιο πρόσφατες πληροφορίες μπορούν να μεταφορτωθούν από το www.trekds.com\techinfo ή με την επαφή των τεχνικών υπηρεσιών TREK



Κατασκευάζεται από την TREK Diagnostic Systems
Units 17-19 Birches Industrial Estate, East Grinstead,
West Sussex, RH19 1XZ, UK
Τηλ.: +44-1342-318777

Διανέμεται από την TREK Diagnostic Systems,
982 Keynote Circle, Suite 6, Cleveland, Ohio 44131
Technical Service USA: 1 (800) 642-7029



GPID_GR_V1.6
Date Updated: 10 January 2014

PŁYTKA IDENTYFIKACYJNA GPID DLA ORGANIZMÓW GRAM DODATNICH

SENSITITRE® 18-24 godziny

Do zastosowań w diagnostyce *in vitro*

Aby uzyskać pełną информацию dotyczącą płytki, włącznie z układem, informacją dotyczącą kontroli jakości, proszę odwiedzić stronę www.trekds.com/techinfo. Wymagany będzie kod płytki i numer partii.

ZASTOSOWANIE

Płytki Sensititre® GPID jest produktem do diagnostyki *in vitro* służącym zautomatyzowanej identyfikacji bakterii Gram dodatnich.

STRESZCZENIE I GŁÓWNE ZASADY STOSOWANIA

Każda płytka GPID składa się z trzech sekcji, z których każda obejmuje 32 suche testy biochemiczne. Testy te obejmują klasyczne podłożą biochemiczne zmodyfikowane tak, aby możliwe było dokonywanie odczytów fluorometrycznych i testów z zastosowaniem substratów fluorogenicznych. Płytki inkubuje się w temperaturze 34-36°C i należy dokonywać ich odczytu po 18 do 24 godzinach w urządzeniu Sensititre® AutoReader®/Optiread® lub ARIS®, pod kątem obecności lub braku fluorescencji. Dane poddawane są analizie przez oprogramowanie i raportowane. Wyłącznie instrumenty wspierane przez Sensititre, tzn. prosta przeglądarka lustrzana, Sensitouch, Vizion, czytniki Sensititre Autoreader®, Optiread® i ARIS® mogą być wykorzystywane do raportowania wyników uzyskiwanych za pośrednictwem produktów Sensititre, spełniających wymogi CE IVD i FDA. Produkty należące do innych systemów nie są obsługiwane.

Układ płytki GPID

	1	2	3	4
A	Mocznik* (13 g/l)	Eskulina (0,02 g/l)	Arginina (10 g/l)	β-D galaktopiranozyd MU (0,1 g/l) FR13
B	β-D-rybofuranozyd MU (0,11 g/l) FR16	Ramnoza (9 g/l)	Alanina-AMC (0,04 g/l) FR15	Mannitol (9 g/l)
C	β-D glukopiranozyd MU (0,1 g/l) FR 14	Trehaloza (9 g/l)	D-alanina AMC (0,05 g/l) FR17	Maltoza (9 g/l)
D	β-D mannopiranozyd MU (0,07 g/l) FR18	Ornityna-AMC (0,05 g/l) FR19	Arginina-AMC (0,05 g/l) FR20	β-D-glukuronid MU (0,1 g/l) FR21

E	α -D-glukopiranozyd MU (0,1 g/l) FR22	Cysteina-AMC (0,05 g/l) FR23	Glicerol (10 g/l)	Treonina-AMC (0,05 g/l) FR24
F	Metionina-AMC (0,05 g/l) FR25	Glukoza (9 g/l)	Sacharoza (9 g/l)	Prolina-AMC (0,05 g/l) FR26
G	Seryna-AMC (0,05 g/l) FR27	β -metylo glukozyd (9 g/l)	Cytrulina-AMC (0,05 g/l) FR28	Piroglutaminian-AMC (0,05 g/l) FR29
H	Sorbitol (9 g/l)	Tyrozyna-AMC (0,05 g/l) FR30	Leucyna-AMC (0,05 g/l) FR31	Walina-AMC (0,05 g/l) FR32

*Test MOCZNIK wymaga pokrycia warstwą jałowego oleju mineralnego.

1. Testy fermentacji cukrów

Glukoza, glicerol, maltoza, mannitol, B-metyloglukozyd, ramnoza, sacharoza, sorbitol, trehaloza - powstawanie kwasu powoduje obniżenie fluorescencji fluoroforu wrażliwego na pH.

2. Testy substratów fluorogenicznych

Substrat enzymatyczny jest związyany z fluoroforem nie dopuszczając do fluorescencji. Rozerwanie wiązania przez enzym powoduje uwolnienie fluoroforu i wzmacnia fluorescencję. Testy te zajmują miejsca od **FR13** do **FR32** na płytce.

3. Inne testy swoiste

Hydroliza **mocznika i argininy** powoduje zwiększenie pH i fluorescencji.

Eskulina jest cząsteczką fluorescencyjną, której hydroliza prowadzi do powstania produktów nie fluorescencyjnych.

BAZA DANYCH

Lista taksonów płytki Sensititre® GPID przedstawiona jest w Załączniku 1. Została ona opracowana w procesie testów ponad dwóch tysięcy szczepów. W przypadkach, w których wiedziano, że szczepy są niejednorodne, testom poddano możliwie jak największą liczbę szczepów pochodzących z różnych źródeł.

Uwzględniono skażenia środowiskowe, aby uniknąć możliwości ich błędnej identyfikacji jako organizmów patogennych.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Płytki te są przeznaczone wyłącznie do użytku in vitro. Wyrób przeznaczony jest do użytku przez osoby posiadające odpowiednie przeszkolenie mikrobiologiczne.

W związku z możliwością zakażenia użytkownika przez żywe mikroorganizmy, używane z tym produktem, należy stosować odpowiednie metody obsługi i utylizacji.

PRZECZYWYWARIE I OKRES TRWAŁOŚCI

Płytki powinny być przechowywane w temperaturze pokojowej (15–25°C) z dala od bezpośredniego działania słońca lub źródeł ciepła. Każda płytka znajduje się w opakowaniu foliowym razem z pochłaniaczem wilgoci w postaci silikażelu. Nie należy

używać płytki, jeżeli upłynęła data przydatności lub jeśli barwa pochłaniacza wilgoci nie jest niebieska lub pomarańczowy , albo torebka foliowa jest uszkodzona.

Inokulacja płytki powinna nastąpić w ciągu 5 godzin od wyjęcia z torebki.

PROCEDURA

Materiały zawarte w zestawie:

Płytki GPID, 10 szt. w pudełku (ilość wystarczająca do zbadania 30 izolatów)

Samoprzylepna folia uszczelniająca

Materiały nieobecne w zestawie [Kody produktów firmy TREK]:

Woda demineralizowana Sensititre® [T3339]

Olej mineralny

Odczynnik katalazowy

Odczynnik hipurowy

Krążki wrażliwości na optochinę

Odczynnik koagulazowy

Odczynnik oksydazowy

Odczynnik ornitynowy

Główice dozujące Sensititre® (do zastosowania z urządzeniem AutoInoculator® / AIM®) [E3010]

Urządzenie Sensititre® AutoInoculator® [V3010]/ AIM® [V3020]

Urządzenie Sensititre AutoReader® [V3029]/OptiRead® [V3030] lub ARIS [V3090]

Urządzenie Sensititre® Vizion [V2021]

Urządzenie Sensititre® Nephelometer [V3011]

Standard mętności 0,5 McFarland [E1041]

Ezy do inokulacji

Pipetor 50 ul i końcówki jednorazowego użytku

Szczepy do kontroli jakości

Płytki agarowe z krwią (5% krwi owczej)

Cieplarka 34-36°C, bez CO₂

Wstrząsarka

Waciki bawełniane

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Aby uzyskać dobrze odizolowane kolonie, próbki należy zbierać, transportować, przechowywać, a następnie umieszczać na nie selektywnym agarze z krwią, korzystając ze standardowych procedur.

PROCEDURA INOKULACJI

Uwaga: Istotne znaczenie ma przygotowanie inokulum ze świeżej hodowli inkubowanej przez noc.

1. Wybrać 3-5 kolonii ze świeżej, pierwotnej płytki agarowej, emulgować w jałowej wodzie i doprowadzić pod kontrolą wzrokową lub używając nefelometru Sensititre® do standardu 0,5 McFarland. Dobrze wymieszać.
2. Odmierzyć 50 µl do każdej studzienki odpowiedniej płytki identyfikacyjnej stosując jedną z poniższych metod:
 - a. Urządzenie Sensititre Autoinoculator®/AIM®. W miejscu korka probówki umieścić jednorazową głowicę dozującą Sensititre®, a następnie inokulować

- płytkę zgodnie z instrukcją urządzenia Autolnocolator® / AIM®; lub
- Pipetowanie manualne. Wlać pożywkę do sterylnej rynienki do posiewu, a następnie inokulować płytę za pomocą odpowiedniej pipety.

Inokulację zawiesiny na płycie należy wykonać w ciągu 60 minut.

- Niezwłocznie po inokulacji do studzienek 1A, 5A, i 9A należy dodać olej mineralny, upewniając się, że ich zawartość jest całkowicie pokryta warstwą oleju. Olej mineralny można także odmierzyć korzystając z urządzenia Sensititre® Autolnocolator®/ AIM®.
- Okryć wszystkie studzienki folią uszczelniającą.
- Zaleca się dokonanie kontroli czystości poprzez hodowlę zawiesin bakteryjnych na płycie agarowej z dodatkiem krwi.

INKUBACJA

Inkubować płytki w temperaturze 34-36°C przez 18 lub 24 godziny w inkubatorze Sensititre® ARIS® lub inkubatorze zewnętrznym. Płytki można ustawiać w stosy po 3.

ODCZYT WYNIKÓW TESTU

Przed odczytem nie jest konieczne dodawanie żadnych odczynników. Płytki można jedynie odczytywać automatycznie w urządzeniu Sensititre® AutoReader® / OptiRead® lub ARIS®. Szczegółowe informacje zawiera odpowiedni Podręcznik użytkownika.

OBLCZENIE IDENTYFIKACJI

Fluorescencja podłoży porównywana jest z odpowiednią wartością odcięcia testu dając wynik dodatni lub ujemny. Wzorzec reakcji jest przekształcany na kod biologiczny, który zostaje porównany z zachowanymi kodami, a także jest wykorzystywany do określenia prawdopodobieństwa w teście Wilcoxa, co skutkuje identyfikacją organizmu.

RAPORTOWANIE

Identyfikacja bazująca na teście GPID powoduje nadpisanie wszelkich istniejących identyfikacji. Dalsze informacje zawarte są w instrukcji oprogramowania Sensititre®. Po uwzględnieniu danych klinicznych, identyfikacja wygenerowana przez system może zostać zmieniona w drodze edycji ręcznej.

Edycja +/- (wyłącznie oprogramowanie Sensititre® dla Windows)

Możliwe jest wyświetlanie wyników poszczególnych testów. Wyniki znajdujące się w pobliżu wartości odcięcia są podświetlane i możliwa jest ich zmiana, co skutkuje ponownym obliczeniem wyniku. Dalsze szczegóły zawarte są w instrukcji oprogramowania Sensititre®.

PRZEWODNIK INTERPRETACJI WYNIKÓW

Doskonała Nie ma wyników testów przeciwnych, lub jest ich niewiele, a wybór innego organizmu jest
bardzo mało prawdopodobny.

Dobra	Identyfikacji towarzyszą nieliczne testy przeciwe.
Dopuszczalna	Identyfikacji towarzyszą nieliczne testy przeciwe; organizmy drugiego i trzeciego wyboru są możliwe, lecz mało prawdopodobne.
Niska selektywność	Identyfikacja prawdopodobnie dotyczy organizmu pierwszego, drugiego lub trzeciego wyboru. Konieczne mogą być dodatkowe testy w celu odróżnienia gatunków.
Identyfikacja grupy.	Identyfikacja rodzaju. Najbardziej prawdopodobne identyfikacje w obrębie grupy także są podane.
Brak prawdopodobnej identyfikacji	Wzorzec danych jest nietypowy i nie odpowiada żadnemu taksonowi znajdującemu się w bazie danych. Może to wskazywać na hodowlę mieszaną, silnie uszkodzony szczep, niskie inokulum, błąd kalibracji, takson nie sklasyfikowany lub takson nieobecny w bazie danych.

TESTY przeciwe

Testy, których wyniki są nietypowe dla taksonu znajdującego się na pierwszym miejscu identyfikacji są podświetlane. Informacja ta może być użytecznym wskaźnikiem obecności skażenia, lub występowania rzadkiego biotypu.

Powtarzające się pojawianie wyników przeciwnych dla tych samych testów wykonywanych dla różnych gatunków może wskazywać na problemy z poprawnym posługiwaniem się płytką, lub na dotyczący płytki błąd.

DODATKOWE TESTY

Klienci używający oprogramowania Sensititre® dla Windows mogą wybrać wprowadzanie wyników z zewnętrznych testów dla katalazy, hemolizy α, hemolizy β, hipuranu, optochiny, koagulazy, oksydazy, pigmentu żółtego lub ornityny w dowolnym czasie podczas realizowania badania płytowego.

Dodatkowo, oprogramowanie Sensititre® automatycznie prosi o wyniki dodatkowych testów, jeśli mogą one pomóc w rozstrzygnięciu niepewnych identyfikacji. Wprowadzenie wyników dodatkowych testów powoduje, że system ponownie przelicza i wyświetla nowe wyniki identyfikacji w celu ich przeglądu. Korzystając z prostej komendy użytkownik może zaakceptować nowe identyfikacje wygenerowane dzięki wprowadzeniu wyników dodatkowych testów, odłożyć decyzję do czasu uzyskania dalszych wyników zewnętrznych (np. badań serologicznych), lub przywrócić początkową identyfikację wygenerowaną przez system.

Oksydaza

Test należy przeprowadzić zgodnie z instrukcją producenta dotyczącą zastosowanego produktu.

Katalaza

Dodać kroplę 3% nadtlenku wodoru na szkiełko zawierające ciężką zawiesinę mikroorganizmów. Pojawienie się pęcherzyków gazu wskazuje na wynik dodatni. Test ten służy do rozróżniania pomiędzy *Streptococcus* (-) a *Micrococcus* (+) lub

Staphylococcus (+), oraz pomiędzy *Listeria* (+) lub *Corynebacteria* (+) a *Erysipelothrix* (-).

Koagulaza

Dostępnych jest wiele komercyjnych zestawów służących do wykonywania natychmiastowych testów kroplowych. Test ten służy rozróżnieniu *S. aureus* (+) od koagulazo-ujemnych gronkowców, takich jak *S. epidermidis*.

Hemoliza alfa i beta

α hemoliza to zielona;brązowa strefa otaczająca kolonię na płytce agarowej z krwią, podczas gdy β hemoliza ujawnia się jako przejrzysta strefa otaczająca kolonię. Obie formy są wynikiem rozpadu krwi. Test ten jest użyteczny do rozróżniania paciorkowców: *S. pyogenes* jest bakterią β hemolityczną, paciorkowce występujące w jamie ustnej nie są β hemolityczne; *S. pneumoniae* jest α hemolityczny, podczas gdy *S. agalactiae* jest zwykle β hemolityczny. Wyniki hemolizy dla *Enterococcus* spp. muszą pochodzić z agaru z krwią końską.

Wrażliwość na optochinę

Ten test wymaga inkubacji do następnego dnia. Standardowe krążki papierowe zawierające optochinę umieszcza się na odpowiedniej płytce agarowej inokulowanej badaną hodowlą. Następnie płytka inkubuje się do następnego dnia. *S. pneumoniae*, w przeciwieństwie do innych paciorkowców, daje strefę inhibicji o średnicy ≥ 14 mm.

Hydroliza hipuranu

Zawiesinę organizmów inokuluje się w komercyjnie przygotowanej probówce z hipuranem, postępując zgodnie z instrukcją producenta. Test ten służy do rozróżniania β hemolitycznych paciorkowców z grupy B (*S. agalactiae*), dających wynik dodatni od β hemolitycznej grupy A (*S. pyogenes*).

Ornityna

Test należy przeprowadzić zgodnie z instrukcją producenta dotyczącą zastosowanego produktu.

Test ten jest użyteczny w rozróżnianiu *Staphylococcus lugdunensis* (+) od większości innych gronkowców.

Żółty pigment

Ten test może być stosowany w celu wspomagania identyfikacji *Enterococcus casseliflavus*, który produkuje żółty pigment. Pigment można zaobserwować zbierając kilka kolonii z płytki służącej kontroli czystości na wacik bawełniany.

Wrażliwość na chinuprstynę/dalfoprstynę

Wyniki dotyczące wrażliwości na chinuprstynę/dalfoprstynę mogą być pomocne w rozróżnieniu pomiędzy *Enterococcus faecalis*, który jest zwykle oporny (MIC > 4 $\mu\text{g/ml}$) a *Enterococcus faecium*, który jest zwykle wrażliwy.

TABELA 1: Rozróżnianie gatunków *Listeria*

Zalecane są następujące testy:

	β hemoliza	Ramnoza	Ksyloza	CAMP Staph/Rhodo
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	+/-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	+	-/+
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-/-
<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-/-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	+	+/-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	-/-

TABELA 2: Rozróżnianie w grupie *Staphylococcus hominis/ saprophyticus/ warneri*

Można zastosować następujące testy dodatkowe:

	Wrażliwość na krążek z nowobiocyną	Wzrost beztlenowy w pożywce tioglikolanowej
<i>Staphylococcus hominis</i>	Wrażliwy	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Oporny	(+) reakcja opóźniona
<i>Staphylococcus warneri</i>	Wrażliwy	+

CHARAKTERYSTYKA SKUTECZNOŚCI

Skuteczność płytka identyfikacyjnych Sensititre® GPID Gram dodatnich ustalono na podstawie oceny dokonanej przez kilka laboratoriów, w porównaniu do dostępnych komercyjnie systemów identyfikacyjnych. Uzyskano poziom zgodności 91 –100% dla gatunków *Enterococcus*, 94,1 do 100% dla gatunków *Staphylococcus* oraz 91,5 do 100% dla gatunków *Streptococcus*.

KONTROLA JAKOŚCI

W odniesieniu do poniższych organizmów zaleca się ocenę przez niezależne laboratorium:

<i>Kocuria rosea</i> (<i>Micrococcus roseus</i>)	ATCC 186
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 700296

Do kontroli jakości wybrano izolaty dające wynik dodatni lub ujemny w każdym teście. Uwzględniono dwa organizmy Gram ujemne. Organizmy te wybrano ze względu na to, że zapewniają one unikalny wzorzec reakcji dodatnich / ujemnych, są łatwiejsze do utrzymania niż alternatywne organizmy Gram dodatnie, lub już znajdują się w izolatach do kontroli jakości przeznaczonych do badań wrażliwości na działanie środków antybakteryjnych w ramach innych rutynowych procedur laboratoryjnych. Zastosowanie izolatów Gram ujemnych do kontroli jakości tego

produkту jest uzasadnione, ponieważ produkt Sensititre® GPID opiera się na wykrywaniu preformowanych enzymów obecnych w nie rosnących zawiesinach komórkowych. Tego typu reakcje enzymatyczne są niezależne od rodzaju materiału komórkowego.

Uwaga: Organizmy do kontroli jakości wybiera się tak, aby uzyskać reakcję dodatnią / ujemną dla wszystkich testów. Identyfikacje organizmów mogą różnić się od tych, które podano w tabeli kontroli jakości. Akceptowalną skuteczność produktu należy określić poprzez porównanie wyników testów, a nie identyfikacji.

Reakcje opisane jako DOD lub UJ są koniecznymi wskaźnikami umożliwiającymi stwierdzenie, że płytka przeszła kontrolę jakości. Pozostałe reakcje, opisane jako +, -, (+), (-) są reakcjami oczekiwanyimi. Mają one charakter informacyjny i nie są konieczne w kontroli jakości.

TABELA 3a: Oczekiwane wyniki dla zalecanych organizmów kontroli jakości – 18 godzin

Substrat	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Moczniak	-	UJ	DOD	(-)	(+)
FR16	UJ	DOD	+	+	+
FR14	UJ	DOD	-	(-)	-
FR18	UJ	DOD	-	-	-
FR22	(+)	DOD	(+)	+	UJ
FR25	(+)	DOD	UJ	+	+
FR27	(-)	DOD	UJ	+	(-)
Sorbitol	(-)	DOD	-	(+)	N
Eskulina	UJ	DOD	-	-	-
Ramnoza	UJ	-	-	DOD	-
Trehaloza	UJ	DOD	-	+	-
FR19	(-)	DOD	-	+	N
FR23	(-)	DOD	UJ	+	(+)
Glukoza	UJ	DOD	+	+	(+)
β-metylo-glukozyd	UJ	DOD	(-)	(-)	-
FR30	(+)	DOD	UJ	(+)	+
Arginina	UJ	DOD	+	+	+
FR15	+	DOD	UJ	+	+
FR17	DOD	(-)	N	(-)	(-)
FR20	(+)	(-)	UJ	DOD	+
Glicerol	(-)	DOD	(+)	+	UJ
Sacharoza	UJ	DOD	+	-	-
FR28	UJ	DOD	-	+	(+)
FR31	(-)	DOD	UJ	+	+
FR13	UJ	(-)	(+)	DOD	-
Mannitol	(-)	DOD	UJ	+	N
Maltoza	UJ	DOD	(+)	+	-
FR21	-	UJ	-	DOD	-

FR24	(-)	DOD	UJ	+	(+)
FR26	(+)	UJ	-	(+)	DOD
FR29	(-)	DOD	UJ	-	+
FR32	(-)	-	UJ	DOD	-

TABELA 3b: Oczekiwane wyniki dla zalecanych organizmów kontroli jakości – 24 godziny

Substrat	<i>K. rosea</i> ATCC 186	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Moczniak	-	UJ	DOD	-	+
FR16	UJ	(+)	DOD	+	+
FR14	UJ	DOD	-	(-)	-
FR18	UJ	DOD	-	-	-
FR22	(+)	DOD	(+)	+	UJ
FR25	(+)	DOD	UJ	+	+
FR27	(-)	DOD	UJ	+	(-)
Sorbitol	(-)	DOD	UJ	+	-
Eskulina	UJ	DOD	-	-	-
Ramnoza	UJ	-	-	DOD	-
Trehaloza	UJ	DOD	-	+	-
FR19	(-)	DOD	UJ	+	(-)
FR23	(-)	DOD	UJ	+	(+)
Glukoza	UJ	DOD	+	+	(+)
β-metylo-glukozyd	UJ	DOD	-	(-)	-
FR30	(+)	DOD	UJ	+	(+)
Arginina	UJ	DOD	+	+	+
FR15	+	DOD	UJ	+	+
FR17	DOD	UJ	-	-	(-)
FR20	(+)	-	UJ	DOD	+
Glicerol	(-)	DOD	+	+	UJ
Sacharoza	UJ	DOD	+	-	-
FR28	UJ	DOD	-	+	(+)
FR31	(-)	DOD	UJ	+	+
FR13	UJ	(-)	(+)	DOD	-
Mannitol	(-)	DOD	UJ	+	-
Maltoza	UJ	DOD	+	+	-
FR21	-	UJ	-	DOD	-
FR24	-	DOD	UJ	+	(+)
FR26	(+)	UJ	-	+	DOD
FR29	(-)	DOD	UJ	-	+
FR32	(-)	-	UJ	DOD	-

DOD = Kontrola dodatnia dla wskazanego substratu

UJ = Kontrola ujemna dla wskazanego substratu

+= Wynik dodatni

-= Wynik ujemny

(+) = Zmienny: zwykle dodatni, lecz czasami może być ujemny

(-) = Zmienny: zwykle ujemny, lecz czasami może być dodatni
W przypadku niemożności wyjaśnienia rozbieżności podczas kontroli jakości należy kontaktować się z dystrybutorem systemu Sensititre® lub firmą TREK Diagnostic Systems.

ZAŁĄCZNIK 1: Organizmy znajdujące się w bazach danych identyfikacji GPID

<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp <i>aureus</i>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp <i>capitis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Corynebacterium</i> species	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp <i>hominis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp <i>saprophyticus</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp <i>constellatus</i>
<i>Kocuria rosea</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp <i>equisimilis</i>
<i>Kocuria</i> species	<i>Streptococcus grups G</i>
<i>Kytococcus</i> species	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Listeria innocua</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Listeria</i> species	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Micrococcus</i> species	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Rhodococcus equii</i>	<i>Streptococcus uberis</i>

OGRANICZENIA

1. Płytki GPID nie mogą być odczytywane manualnie.
2. Płytki GPID pozwalają na automatyczną identyfikację bakterii Gram dodatnich, których taksony zawarte są w bazie danych Sensititre® (Załącznik 1). Reakcje wywoływane przez przedstawicieli innych gatunków bakterii nie zapewniają poprawnego wyniku.
3. Identyfikacja GPID zachowuje ważność wyłącznie dla izolatów Gram dodatnich hodowanych na płytach agarowych z krwią.
4. Ostateczna interpretacja wyniku dokonywana jest przez mikrobiologa, a do potwierdzenia tożsamości danego organizmu konieczne może być wykonanie dodatkowych testów. W procesie uzyskiwania ostatecznego wyniku należy brać pod uwagę wiele innych czynników, takich jak: źródło próbki, historia choroby pacjenta, morfologia kolonii i mikroskopowa morfologia bakterii, wyniki barwienia metodą Grama, ruchliwość, serologia oraz wzorce wrażliwości na antybiotyki.

LITERATURA

1. Kelly, T; Knapp, C; Jenkins, S; Mulholland, P; Gilligan, P; and Rodgers, E. (1998). Comparative evaluation of the new Sensititre® AP90 gram positive identification system to the Vitek GPI test card. *American Society of Microbiology. Abstract C4.*

ZRZECZENIE ODPOWIEDZIALNOŚCI

Informacje zawarte w niniejszej ulotce technicznej są aktualne w czasie wydruku i mogą się zmienić bez powiadomienia.

Najnowsze informacje mogą zostać pobrane ze strony www.trekds.com\techinfo lub uzyskane w wyniku kontaktu z pomocą techniczną firmy TREK.



Wyprodukowane przez TREK Diagnostic Systems

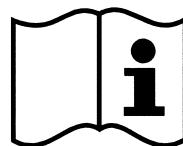
Units 17-19 Birches Industrial Estate, East Grinstead
West Sussex RH19 1XZ UK
Tel: +44 1342 318777

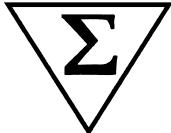
Rozpowszechniane przez TREK Diagnostic Systems,
982 Keynote Circle, Suite 6, Cleveland, Ohio 44131
Obsługa techniczna USA: 1 (800) 642-7029



GPID_POL_V1.1
Data aktualizacji: 10 January 2014.

Symbols/Símbolos/Simboli/Symbol/Symboles/σύμβολο/Simbolis/Symbole

LOT	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Batch code Chargenbezeichnung Código de lote Codice del lotto Code du lot Κωδικός παρτίδας serijos numerj. šarze kadex Kod Partii lot număr Código do grupo	
REF	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Catalogue number Bestellnummer Número de catálogo Numero di catalogo Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Reikia žinoti plokštelės kodą Katalogovho čislovka Numer Katalogu Catalog număr Número de catálogo	
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Manufacturer Hersteller Fabricante Fabbricante Fabricant Κατασκευαστής Dirbt Výrobce Producent Manufacturer Fabricante	
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Consult Instructions for Use- Gebrauchsanweisung beachten Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλεύτε τις οδηγίες χρήσης Ieškant instrukciju Projednat Instrukce Zauziti Przed użyciem zapoznaj się z instrukcją Consultate instrucțiuni pentru folos Consulte instruções para o uso	
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Temperature limitation Zulässiger Temperaturbereich Límite de temperatura Limiti di temperatura Limites de température Οριο θερμοκρασίας Temperatura reba Teplota Limit Ograniczenie Temperatur Temperatūra limitation Limitaçāo de temperatura	
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Use By Verwendbar bis Fecha de caducidad Utilizzare entro Date de péremption Ημερομηνία λήξης Baigtis Data Užití Za Użyć Do Folos By Uso perto	YYYYMMDD/YYYYMM (MM=end of month) JJJJMMTT/JJJJmm (MM=Monatsende) aaaammdd/aaaamm (mm=fin del mes) AAAAMMGG/AAAAMM (MM=fine mese) AAAAMMJJ/AAAAMM (MM=fin de mois) EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) KKKKMMDD RRRRMMDD RRRR/MM/DD AAAA/LL/ZZ YYYYMMDD/YYYYMM (MM= fim do mês)
IVD	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	In Vitro Diagnostic Medical Device In Vitro Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositivo medico-diagnóstico in vitro Dispositif médical de diagnostic in vitro In vitro διαγνωστικό ιατρικό βοήθημα In vitro diagnostikai In vitro diagnostic Urządzenie Diagnostyczne in vitro Pentru diagnosticare in vitro In Vitro Dispositivo Médico Diagnóstico	



GB	Contains sufficient for <n> tests
DE	Ausreichend für <n> Ansätze
ES	Contenido suficiente para <n> ensayos
IT	Contenuto sufficiente per <n> saggi
FR	Contenu suffisant pour <n> tests
GR	Περίεχει επαρκή ποσατητά για <n> εξετάσεις
LI	Skaičius bandymas <n>
CZ	Obsahuje vhodný <n> testy
PL	Wystarczający dla <n> próbek
RO	contact sufficient pentru <n> tests
PT	Contem suficiente para <n> testes



GB	Plates with fluorescence substrates in wells
DE	Platten mit Fluoreszenzsubstraten in den Mulden
ES	Placa con substratos fluorescentes en los pocillos
IT	Pannelli con substrati fluorescenti nei pozzetti
FR	Plaquette avec substrats fluorescents dans les cuves
GR	Πλάκα με υποστρώματα φθορισμού σε υποδοχές
LI	substrato plokštelės
CZ	Fluorescenční substráty
PL	Płytki z substratami fluorescencyjnymi w studienkach
RO	Fluorescentă Substratul
PT	Placas com as carcaças da fluorescência nos poços

SYMBOLS_V2.0