

## SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Diagnostická souprava NEISS je standardizovaný identifikační systém pro běžnou druhovou identifikaci klinicky významných zástupců rodu *Neisseria*, který využívá 8 miniaturizovaných biochemických testů a internetové databáze. Na konci návodu je uveden kompletní seznam všech mikroorganismů, pro které je souprava určena.

## PRINCIP

Souprava NEISS 8 sestává z 8 jamek mono stripu mikrotitrační destičky v klasickém 96 jamkovém formátu obsahujících dehydratované substráty. Rekonstituce substrátů probíhá inokulací bakteriální suspenzí. V průběhu inkubace dochází v důsledku metabolické aktivity mikroorganismů k barevným změnám v jednotlivých jamkách. Odečet výsledků testů probíhá vizuálně na základě barevné stupnice. Výsledky identifikace se odečtou z vyhodnocovací tabulky s přehledem profilů nebo za pomoci vyhodnocovacího softwaru.

## OBSAH SOUPRAVY - 60 testů

- 5 mikrotitračních destiček NEISS 8
- 60 výsledkových formulářů
- 5 inkubačních sáčků
- 1 příbalový leták

## POTŘEBNÁ, ALE NEDODÁVANÁ ČINIDLA MATERIÁL

### Činidla:

- INDOXYL (Ref. 2007)
- Lugolův roztok

### Materiál:

- Pipety
- Tampony, klíčky, kahan, zkumavky a další základní vybavení mikrobiologické laboratoře

## VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro* a k mikrobiologické kontrole.
- Pouze pro profesionální použití.
- Dodržujte přesně pracovní návod!
- Veškeré vzorky a inokulované produkty se musí považovat za potenciálně infekční a je třeba respektovat při manipulaci s nimi obvyklá bezpečnostní opatření dle předpisů platných v každé zemi.
- Nepoužívejte produkt po datu expirace.
- Před použitím zkontrolujte, zda je obal nepoškozen. Poškozené soupravy nepoužívejte.

Při interpretaci výsledků je nutno vzít v úvahu anamnézu pacienta, zdroj vzorku, morfologii kolonie a mikroskopickou morfologii kmene a, pokud je to nezbytné, výsledky všech dalších provedených testů, obzvláště výsledky antibiogramu.

## PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ

Diagnostické soupravy se dodávají ve vícevrstvých sáčcích na bázi hliníku, polyamidu a PE. Součástí každého sáčku je silikagelové sušidlo. Uchovávejte soupravy při teplotě +2 až +25°C. Expirace je uvedena na každém balení. Po otevření uložte nepoužitý zbytek mikrotitrační destičky do hliníkového sáčku vč. originálního silikagelového sušidla, sáčků pečlivě uzavřete a uložte při laboratorní teplotě. Takto lze skladovat produkt po dobu 2 týdnů nebo do data expirace v případě, že nastane díve.

## VZORKY

Mikroorganismy, které mají být identifikovány izolujte z vhodného kultivačního média (krevní agar) podle standardních mikrobiologických technik. Konfirmované izobáty identifikujte na NEISS 8.

Posuďte čistotu a morfologii bakteriální kultury.

## PRACOVNÍ POSTUP

### Příprava inokula

- Použijte jakýkoliv sterilní nepufrovaný vytemperovaný fyzilogický roztok.
- Bakteriologickou klíčkou nebo tamponem naberte z čisté 18 – 24 hod. kultury několik dobře izolovaných kolonií.
- Zákal řádně homogenizované suspenze musí odpovídat 2 – 4 McF. Tato suspenze se musí použít ihned po přípravě.

### Inokulace

- Zznamenejte na stripu čísla vyšetřovaných kultur
- Inokulujte 0,1 ml řádně homogenizované suspenze do každé jamky monstripu.

### Inkubace

- Vložte rámeček s inokulovanými stripy do přiloženého PE sáčku, jehož konec zahněte pod destičku – zabráníte tím vysychání bakteriální suspenze.
- Inkubujte aerobně při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 4 hodin.
- Pro *N. lactamica* lze provést test ONP s výsledkem do dvou hodin.

## HODNOCENÍ A INTERPRETACE

Po době inkubace testovací strip odečtete za pomoci odečítací tabulky, barevné stupnice nebo výsledků kontrolních kmenů.

**Jamka H:** Test SPS zakapejte po 18 – 24 hodinách 2 kapkami Lugolova roztoku a vyhodnoťte. Do výsledkového formuláře zaznamenejte výsledky testů.

## IDENTIFIKACE

Výsledek identifikace se získá pomocí:

- identifikační tabulky
- oktalového kodu

### Identifikace pomocí identifikační tabulky:

Srovnajte výsledky testů a proveďte vyhodnocení dle výsledků testů uvedených v tomto návodu na straně 2.

### Identifikace pomocí oktalového kodu:

Rozdělte testy do za sebou jdoucích trojic a přiřaďte pozitivním testům v trojici následující hodnoty: První test = 1, druhý test = 2, třetí test = 4. Součtem hodnot pro každou trojici vzniká trojmístný oktalový kód, který můžete vyhledat v identifikační tabulce a identifikujete tak výsledek stanovení.

## KONTROLA KVALITY

Kvalita vyráběných diagnostických souprav se systematicky kontroluje. Chemikálie jsou nakupovány pouze od ISO certifikovaných firem a kvalita těchto chemikálií je ověřena doloženým analytickým certifikátem. Funkčnost souprav jsou mimo jiné testována na kontrolních sbírkových kmenech, kontrolována a testována je také přítomnost mikrobiální kontaminace. Soupravy jsou podrobovány zátěžovým testům při zvýšené teplotě a z každé šarže jsou ukládány referenční vzorky pro správné posouzení případných pozdějších reklamací.

## OMEZENÍ METODY A PŘÍČINY NEÚSPĚCHU IDENTIFIKACE

- Nedodržení některého bodu pracovního návodu.
- Kontaminace jamek inokulem z dalšího stripu.
- Jedná se o atypický kmen

**CHARAKTERISTIKY STANOVENÍ**

Bylo testováno celkem 102 sbírkových kmenů a bakteriálních kmenů klinického původu patřících k druhům zahrnutým v databázi:

**Interní testování:**

- 95 % kmenů bylo správně identifikováno (s doplňkovými testy nebo bez nich).
- 5 % kmenů nebylo identifikováno.
- 0 % bylo identifikováno špatně.

**Nezávislé testování:**

- 92 % kmenů bylo správně identifikováno (s doplňkovými testy nebo bez nich).
- 8 % kmenů nebylo identifikováno.
- 0 % bylo identifikováno špatně.

**LIKVIDACE ODPADU**

S materiálem zacházejte jako s potencionálně infekčním agens. Odpad likvidujte dle interních operačních postupů a směrnic v souladu s legislativou své země.

**PRO POTŘEBU VLASTNÍHO OVĚŘENÍ FUNKČNOSTI SOUPRAVY DOPORUČUJEME POUŽÍT NÁSLEDUJÍCÍ KONTROLNÍ KMENY:**

Kontrolní kmen	CCM	ATCC	SPS	GLU	MLT	FRU	SUC	LAC	GGT	TRB
<i>Neisseria lactamica</i>	4392	-	-	+	+	-	-	+	-	-
<i>Neisseria subflava</i>	3482	-	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	4634	13077	-	+	+	-	-	-	+	-
<i>Moraxella catharalis</i>	4391	-	-	-	-	-	-	-	-	+

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

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

Profily získané po 18 až 24 hodinách inkubace po kultivaci na krevním agaru. Kontrolní kmeny slouží pouze k ověření funkčnosti jednotlivých testů, nikoliv pro kontrolu správnosti identifikace.

**ODEČÍTACÍ TABULKA****Identifikační tabulka a seznam profilů:**

JAMKA	ZKRATKA TESTU	NÁZEV TESTU	VÝSLEDKY	
			NEGATIVNÍ	POZITIVNÍ
H	SPS	Syntéza polysacharidu	Běžová	Hnědá
G	GLU	Glukóza	Červená	Žlutá
F	MLT	Maltóza	Červená	Žlutá
E	FRU	Fruktóza	Červená	Žlutá
D	SUC	Sacharóza	Červená	Žlutá
C	LAC	Laktóza	Červená	Žlutá
B	GGT	Gama glutamyl transferáza	Bezbarvá, zákal suspenze	Žlutá
A	TRB	Tributylin	Červená	Žlutá

Název	SPS	GLU	MLT	FRU	SUC	LAC	GGT	TRB	ONP	Profil
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	200
<i>Neisseria meningitidis</i>	-	+	+	-	-	-	+	-	-	601
<i>Neisseria lactamica</i>	-	v	+	-	-	+	-	-	+	640, 440 (ONP +)
<i>Neisseria polysaccharea</i>	+	+	+	-	v	-	-	-	-	700, 720
<i>N. sicca</i> / <i>N. mucosa</i> / <i>N. subflava</i>	+	+	+	+	(+)	-	v	-	-	730, 731, 710, 711
<i>Neisseria flavescens</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	300
<i>Neisseria cinerea</i> / <i>Neisseria elongata</i> *	-	-	-	-	-	-	-	-	-	000
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	002

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

\*Dle morfologie

**Literatura:**

1. Brown, J. D., and K. R. Thomas. 1985. Rapid enzyme systém for the identification of pathogenic *Neisseria* spp. J. Clin. Microbiol. 21:857-858.
2. Isenberg, H.D. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Vol. I & II. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Koneman, E.W., et al. 1997. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, PA.
4. Murray, P.R., et al. 1995. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.