



EN-COCCUStest



Kat. č. MLT0004

Pro mikrobiologii

Souprava EN-COCCUStest je určena pro rutinní druhovou identifikaci klinicky významných zástupců rodu *Enterococcus*. Souprava umožnuje provést identifikaci 36 kmenů, pomocí osmi biochemických testů: arginin, sorbóza, arabinóza, manitol, sorbitol, melibióza, raffinóza a melezitóza.

Pro detekci znaku charakteristického pro rod *Enterococcus* – aktivity pyrrolidonylarylamidázy – je určen PYRAtest, dodávaný ve formě detekčního proužku.

Souprava EN-COCCUStest obsahuje:

- 3 mikrotitrační destičky (každá pro identifikaci 12 kmenů) se sušidlem
- Návod na použití s diferenciacní tabulkou
- Barevná škála pro soupravu EN-COCCUStest
- 3 PE sáčky pro inkubaci
- Skladovací sáček (na uložení nespotřebované destičky), 1 ks
- 36 formulářů pro záznam výsledků
- Víčko

Skladování, exspirace:

- EN-COCCUStest je třeba skladovat při teplotě (+2 až +25) °C. Exspirace je vyznačena na každém balení.

Doporučený pracovní postup pro EN-COCCUStest**Potřeby pro práci se soupravou EN-COCCUStest,** **které nejsou součástí soupravy:**

- Parafínový olej sterilizovaný (kat. č. MLT00042 – 750 stanovení)
- Petriho misky s krevním agarem
- Zkumavky (100x15) mm s 1,2 ml sterilního fyziologického roztoku
- Přístroj DENSILAMETER II, kat. č.: INS00062
- Automatická mikropipeta 0,1 ml, sterilní špičky
- Termostat (35–37) °C
- Běžné laboratorní mikrobiologické vybavení (kličky, popisovače, kahan)

Identifikační pomůcky, které nejsou součástí soupravy:

- Kódová kniha pro soupravu EN-COCCUStest - umístěna na www.eralachema.com (sekce Mikrobiologie)
- Identifikační program ErbaExpert

Potřeby pro detekci aktivity**pyrrolidonylarylamidázy:**

- PYRAtest (kat. č. MLT00040 – 50 stanovení)

- Činidlo pro test PYR (kat. č. MLT00023)

Upozornění:

- Souprava je určena pouze k profesionálnímu použití

Dodržujte zásady pro práci s infekčním materiélem!**Izolace kultur:**

- Izolaci kultur provedte konvenční bakteriologickou technikou na krevním agaru.
- Posuďte morfologii čisté kultury, hemolytickou aktivitu na krevním agaru, provedte test na detekci aktivity pyrrolidonylarylamidázy (test PYR, detekční proužek PYRAtest), případně další testy pro potvrzení příslušnosti izolátu k rodu *Enterococcus* [serologická skupina D (ev. se mohou vyskytnout kmeny enterokoků serologické skupiny Q nebo bez skupinového antigenu), atd.].
- Izoláty, příslušenství k rodu *Enterococcus*, identifikujte pomocí soupravy EN-COCCUStest.

Příprava inokula:

- Z čisté 24 h kultury připravte ve fyziologickém roztoku suspenzi. Suspenzi dobře homogenizujte.
- Zákal suspenze musí odpovídat 2. stupni McFarlandovy zákalové stupnice. Slabší nebo hustší suspenze může vést k falešným reakcím.

Poznámka:

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

Ověření čistoty inokula:

- V případě, že si chcete ověřit čistotu inokula, provedte stejnou kličkou jakou jste připravili suspenzi křížový roztěr. Čistotu kultury kontrolujte po 24 hodinách inkubace. Kontrolní kultura může být použita k provedení doplňkových testů.

Příprava destičky EN-COCCUStest:

- Otevřete aluminiový sáček odstříhnutím těsně vedle sváru a vyjměte destičku.
- Pomocí skalpelu odřízněte příslušný počet řad (stripů) destičky, odpovídající počtu testovaných kmenů.
- Vyříznuté řady vyjměte z panelu, sejměte ochrannou Al folii, řady umístěte do připraveného prázdného rámečku. V případě, že se soupravou MIKROLATEST® pracujete poprvé a prázdný rámeček nemáte k dispozici, použijte rámeček první destičky. Nevyužité stripы první destičky pak uložte ve skladovacím sáčku volně.
- Zaznamenejte čísla vyšetřovaných kultur na příslušné stripы.
- Zbytek nepoužité destičky se sušidlem vložte do přiloženého Al sáčku na uložení neuzívánované destičky a uložte do chladničky pro další použití; dbejte na to, aby destička byla chráněna před

vlhkostí. Doporučujeme destičku po prvém použití spotřebovat do 4 týdnů.

Poznámka:

Případné nerovnoměrné rozložení substrátu v jamce nemá vliv na funkčnost testu.

Inokulace:

- Bakteriální suspenzi před použitím důkladně protřepejte.
- Inokulujte 0,1 ml suspenze do všech jamek příslušného řádku destičky.
- Při inokulaci dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci sousedních jamek.
- K jamkám sloupce H (test arginin) přidejte po inokulaci 2 kapky sterilního parafinového oleje.

Poznámka:

- S každou sérií neznámých kmenů a při použití nové šarže destiček EN-COCCUStest naočkujte současně kontrolní kmeny pro ověření barevného vyjádření pozitivních a negativních reakcí; pro ověření negativních reakcí lze zakapat 1 řádek sterilním fyziologickým roztokem.

Poznámka:

V případě, že víčko v průběhu práce používáte na přikrytí destičky, před použitím jeho vnitřní stranu otřete ethanolem.

Inkubace:

- Vložte rámeček s naočkovanými řadami do inkubačního PE sáčku.
- Otevřený konec sáčku zahněte pod destičku, aby nedošlo k vysychání inokula.
- EN-COCCUStest vložte do termostatu, nastaveného na teplotu (35–37) °C, a inkubujte 24 h.

Hodnocení:

- Odečtěte všechny testy a výsledek zaznamenejte do formuláře pro záznam výsledků.
- Pro hodnocení barevných reakcí použijte tabulku Interpretace reakcí, barevnou srovnávací stupnice pro soupravu EN-COCCUStest nebo se orientujte podle barevných reakcí kontrolních kmenů.

Identifikace:

- Identifikaci provedte pomocí Diferenciační tabulky nebo pomocí Indexu.
- Při identifikaci posuzujte kulturu komplexně, s přihlédnutím k původu izolátu, morfologickým a dalším znakům; tvorba žlutého pigmentu a pohyb jsou důležitými znaky pro druhovou identifikaci enterokoků.
- V případě neúspěšné identifikace opakujte EN-COCCUStest, případně zašlete izolát k identifikaci do NRL pro streptokoky a enterokoky SZÚ.

Likvidace použitého materiálu:

- Po použití vložte destičku do nádoby pro infekční materiál a autoklávujte nebo zničte spálením. Prázdné papírové obaly se předají do sběru k recyklaci.

**Nejčastější možné příčiny neúspěchu
při identifikaci:**

- Smíšená nebo kontaminovaná kultura.
- Použití inokula malé hustoty nebo malého objemu.
- Inokulum bylo rozstříknuto i do sousední řady.
- Test arginin nebyl převrstven parafínovým olejem.
- Nedodržení některého bodu z doporučeného pracovního postupu.
- Může se jednat o atypický kmen nebo zástupce druhu, který nebyl zahrnut do Diferenciační tabulky a Indexu.

Identifikace pomocí Indexu:

- Index slouží pro rychlou a standardní interpretaci výsledků reakcí EN-COCCUStestu; zahrnuje typické výsledky enterokoků z klinického materiálu (druhy, zahrnuté do Indexu, jsou v Diferenciační tabulce vyznačeny tučným písmem).
- Výsledky reakcí a jejich interpretace jsou v Indexu seřazeny podle hodnoty **profilu**, což je číselný kód, jednoznačně vyjadřující výsledek reakcí všech testů na EN-COCCUStestu; formulář pro záznam výsledků usnadňuje výpočet profilu.

Postup při výpočtu profilu:

- Výsledky, zaznamenané do formuláře pro záznam výsledků, jsou rozděleny do tří skupin (2 trojice a 1 dvojice testů).
- V každé skupině jsou testům přiřazena čísla 1, 2 a 4.
- Při výpočtu profilu sečtěte v každé skupině testů hodnoty čísel u testů s pozitivní reakcí (testů s negativním výsledkem se přiřazuje hodnota nula).
- Součet zapíšte do příslušného políčka řádku „Profil“ ve formuláři.
- Výsledné 3ciferné číslo = Profil.

Příklad výpočtu profilu:

H ARG 1	G SOE 2	F ARA 4	E MAN 1	D SOR 2	C MLB 4	B RAF 1	A MLZ 2
+	-	-	+	+	-	-	-
1 (0)	(0)	(0)	1	2 (0)	(0)	(0)	(0)
1			3			0	

- EN-COCCUStest
- číselné hodnoty testů
- výsledky reakcí
- součet hodnot
- profil

V Indexu nalezená identifikace, odpovídající hodnotě profilu 130: *Enterococcus faecalis*.

Kontrola kvality testů:

Kvalita chemikálií používaných pro výrobu destiček EN-COCCUStest je ověřována standardním testovacím postupem. Vyrobené série destiček jsou rovněž kontrolovány funkční zkouškou pomocí kontrolních bakteriálních kmenů. Pro práci s destičkami EN-COCCUStest na Vašem pracovišti doporučujeme použít kontrolní kmeny, uvedených v tabulce **Kontrolní kmeny**. Také pro rutinní diagnostiku doporučujeme používat tyto standardní testovací kmeny pro ověření správnosti metodického postupu, průběhu testů a barevného vyjádření reakcí. Kontrolní kmeny lze doporučit použít s každou sérií neznámých kmenů a vždy při použití nové šarže soupravy, respektive dle validačního rádu laboratoře. Na kontrolu funkčnosti soupravy je nutné použít vždy čerstvé izoláty kontrolních kmenů. **Pozor - tyto kmeny slouží pouze pro kontrolu funkčnosti soupravy, nikoli pro kontrolu správnosti, či úspěšnosti identifikace!**

- *Enterococcus raffinosus CCM 4216 (ATCC 49427)*
- *Enterococcus durans CCM 5612 (ATCC 19432)*

Tyto kmeny dodává CCM – Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz.

Kmeny jsou dodávány v lyofilizovaném stavu nebo na želatinových discích.

Kontrolní kmeny

CCM No.	Sloupec/Zkratka testu							
	H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ
4216	–	+	+	+	+	+	+	+
5612	+	–	–	–	–	–	–	–

Interpretace reakcí

Sloupec	Test	Zkratka testu	Reakce	
			pozitivní	negativní
H	Arginin	ARG	červenofialová, červená	žlutá, světle oranžová
G	Sorbóza	SOE	žlutá, světle oranžová	červená, oranžovočervená
F	Arabinóza	ARA	žlutá, světle oranžová	červená, oranžovočervená
E	Mannitol	MAN	žlutá, světle oranžová	červená, oranžovočervená
D	Sorbitol	SOR	žlutá, světle oranžová	červená, oranžovočervená
C	Melibióza	MLB	žlutá, světle oranžová	červená, oranžovočervená
B	Raffinóza	RAF	žlutá, světle oranžová	červená, oranžovočervená
A	Melezitóza	MLZ	žlutá, světle oranžová	červená, oranžovočervená

Ochrana zdraví:

Komponenty soupravy nejsou klasifikovány jako nebezpečné.

Diferenciační tabulka

V. 1.0

EN-COCCUStest										Identifikace	Dodatkové znaky							
H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ	PIG	MOT	SUC	RIB	LAC	TEL	SSD	PYR	HEM		
+	-	-	+	+	-	-	(+)	Enterococcus faecalis	-	-	+	+	+	+	+	+	β 6%	
+	-	+	+	(-)	(+)	(-)	-	Enterococcus faecium	-	-	(+)	+	+	-	+	+	β 0%	
+	-	+	+	d	+	(+)	-	Enterococcus mundtii	+	-	+	+	+	-	+	+		
-	+	+	+	+	+	+	+	Enterococcus raffinosus	-	-	+	+	+	-	+	+		
-	+	+	+	+	-	-	+	Enterococcus avium	-	-	+	+	+	-	d	+		
d	-	+	+	d	+	+	-	Enterococcus casseliflavus	+	+	+	+	+	-	+	+	α	
+	-	+	+	-	+	+	-	Enterococcus gallinarum	-	+	+	+	+	-	+	+		
+	-	-	-	-	d	-	-	Enterococcus durans	-	-	-	+	+	-	+	+	β 70%	
+	-	-	-	-	(+)	d	-	Enterococcus hirae	-	-	(+)	+	+	-	d	+	β 0%	
+	-	-	-	-	-	-	d	E. faecalis asaccharolytic var.	-	-	-	+	+	+	+	+		
-	+	-	+	+	(+)	+	-	Enterococcus malodoratus	-	-	+	+	+	-	d	+		
-	+	-	+	+	-	-	-	Enterococcus pseudoavium	-	-	+	+	+	-	d	+		
-	-	-	d	d	d	+	d	Enterococcus cecorum	-	-	+	+	+	n	-	-		
-	-	(+)	+	(+)	d	+	(-)	Enterococcus columbae	-	-	n	+	+	n	-	-		
+	-	-	-	-	-	+	-	Enterococcus dispar	-	-	+	+	+	-	-	+		
-	(-)	-	+	+	+	+	+	Enterococcus saccharolyticus	-	-	+	+	+	n	-	-		
+	-	-	+	+	(-)	-	+	Enterococcus solitarius	-	-	+	n	-	n	+	+		
-	-	-	-	-	d	+	+	Enterococcus sulfureus	+	-	+	+	+	-	-	+		

Vysvětlivky: + = pozitivní reakce

- = negativní reakce

d = variabilní reakce

(+) = většinou pozitivní reakce

(-) = většinou negativní reakce

n = neznámá reakce

PIG = tvorba žlutého pigmentu

RIB = ribóza

SSD = serologická skupina D

MOT = pohyb

LAC = laktóza

PYR = pyrrolidonylarylamidáza

SUC = sacharóza

TEL = tellurit

HEM = hemolýza

E. durans, *E. hirae*, *E. faecalis asaccharolytic var.* náleží do skupiny *Enterococcus* Group III

(FACKLAM, R. R. and COLLINS, M. D. 1989:

Identification of *Enterococcus species* isolated from human infections by a conventional test scheme.

J. Clin. Microbiol. 27, 731–734)

Kmeny, které nejsou jednoznačně přiřazeny do jednoho ze tří uvedených druhů, identifikujte jako členy *Enterococcus* Group III.

POUŽITÉ SYMBOLY

REF Katalogové číslo

IVD In vitro diagnostikum

Výrobce

Čtěte návod k použití

LOT Číslo šarže

Teplota skladování

Datum expirace



EN-COCCUStest



Cat. No.: MLT00004

For microbiology

The kit EN-COCCUStest is designed for the routine identification of clinically significant representatives of *Enterococcus* family. The kit enables the identification of 36 strains by means of eight biochemical tests: arginine, sorbose, arabinose, sorbitol, mellibiose, raffinose and mellezitose. For the detection of the characteristic feature of *Enterococcus* family – the pyrrolidonylarylamidase activity can be used PYRAtest, supplied in form of detection strips.

The kit EN-COCCUStest contains:

- 3 microtitration plates (for identification of 12 strains each) with desiccant
- Instructions for use including the differentiation table
- Colour scale for EN-COCCUStest kit
- 3 polyethylene bags for incubation
- Storage bag (for storage of an open plate), 1 pc
- 36 record sheets
- Lid

Storage, Shelf life:

EN-COCCUStest should be stored at the temperature of (+2 to +25)°C. Expiration is indicated on each package.

Recommended working procedure for EN-COCCUStest**Required material for performing the identification****(not included in the kit):**

- Paraffin oil sterilized (Cat. No. MLT00042 – 750 determinations)
- Petri dishes with the blood agar
- Test tubes (100x15) mm with 1.2 ml of a sterile physiological saline
- Instrument DENSILAMETER II, Cat. No.: INS00062
- Automatic micropipette 0.1 ml, sterile tips
- Thermostat (35–37) °C
- Usual microbiological laboratory equipment (loops, markers, burner)

For results evaluation (not included in the kit):

- Code Book for EN-COCCUStest - located at www.eralachema.com
- The ErbaExpert Identification Program

**For detection of
pyrrolidonylarylamidase activity:**

- PYRAtest (Cat. No. MLT00040 – 50 determinations)
- Reagent for PYRtest (Cat. No. MLT00023)

Caution:

- For professional use only

Follow the principles for working with infectious material!**Isolation of cultures:**

- Perform the isolation of cultures by usual technique on blood agar.
- Evaluate the morphology of the pure culture, the haemolytic activity on blood agar, perform test for the detection of the pyrrolidonylarylamidase activity, resp. other tests confirming the appertinence to *Enterococcus* family (usually serological group D or occasionally serological group Q or without any group antigen).

Inoculum preparation:

- Prepare a suspension in the physiological saline from a pure, 24 hours old culture. Homogenize the suspension well.
- The suspension turbidity has to match a McFarland of 2.

Note:

- Usage of sampling pads is recommended to obtain correct suspension density

Culture purity control:

- If required confirm purity of the suspension by streaking-out a sample from the inoculated physiological saline on blood agar and incubate for 24 hours. This culture can be used also for performance of complementary tests.

Preparation of the EN-COCCUStest plate:

- Open the aluminium sachet close to the weld and take out the plate.
- Cut off required number of strips from the plate.
- Remove the adhesive tape from individual strips and insert them into prepared frame. In case you work with MIKRO-LA-TEST® kit for the first time and an empty frame is not available, use the frame of the first plate. The unused strips of the first plate put into the storage bag freely.
- Record number of the strains or isolates to be examined on the appropriate strips.
- Put the rest of the plate with desiccant to the storage bag and store it in a refrigerator for further use; protect it against humidity. We recommend to use the plate within 4 weeks after opening.

Note:

Any uneven distribution of substrate in the well does not affect the functionality of the test.

Inoculation:

- Homogenize the bacterial suspension thoroughly before use.
- Inoculate 0,1ml of the suspension into all microwells.
- After the inoculation, add 2 drops of the sterile paraffin oil into the wells of the column H (test arginine).

Note:

- Inoculate control strains simultaneously with any doubtful strains or using a new batch of EN-COCCUStest to control colour expression of positive and negative reactions. To check negative reactions, drop the sterile physiological saline into one row.

Note:

Clean the inside of the lid and the frame by ethanol just before the use.

Incubation:

- Insert the frame with inoculated rows into the polyethylene bag for incubation.
- Fold the open end of the bag under the plate to prevent evaporation.
- Incubate at (+35 to +37) °C for 24 hours.

Results reading:

- Read all tests and record the results in the record sheets.
- Use the table "Interpretation of reactions", the colour scale or colour reactions of the control strains to evaluate the colour reactions properly.

Identification:

- Use Differentiation table or Index.
- Evaluate the culture as a complex considering the origin of the isolate, the morphological features, the formation of the yellow pigment and the motion.
- If you have failed to identify the culture, repeat the procedure as above.

Disposal of the material used:

- Insert the used plate into the vessel intended for the infectious material and autoclave or destroy it by incineration.

Put paper packaging waste to recycling.

The most frequent causes of identification failure:

- A mixed or contaminated culture.
- Inoculum of low density or small volume.
- Inoculum has contaminated adjacent strips.
- The test arginine has not been overlayed by paraffin oil.
- Failure to follow the recommended working procedure.
- It might be an atypical strain or representative of species that has not been included in the Differentiation table and Index.

Identification by means of Index:

- The Index is intended for quick and standard interpretation of results. It includes typical results of most often isolated enterococci from a clinical material (the species included in the Index are marked in the Differentiation table with bold letters).
- Both the results and interpretations are arranged in the Index according to the profile values, i.e. the numerical code. The record sheet is designed to make the profile calculation.

Procedure when calculating the profile:

- The results in the record sheet are subdivided into three groups.
- In each group, the tests are marked with numbers 1, 2 and 4.
- When calculating the profile, sum up the values of numbers with tests giving positive reactions in each group of tests.
- Record the sum into the respective field of the row "Profile" in the record sheet.
- Profile is represented by three digits number.

Example of the Profile calculation:

H ARG 1	G SOE 2	F ARA 4	E MAN 1	D SOR 2	C MLB 4	B RAF 1	A MLZ 2
+	-	-	+	+	-	-	-
1	(0)	(0)	1	2	(0)	(0)	(0)
1		3			0		

– EN-COCCUStest
– numerical test values
– reaction results
– sum of values
– profile

The identification found in the Index, corresponding to the profile I30: *Enterococcus faecalis*.

Quality control of tests:

The quality control of the kits is performed systematically at various stages of their production. The batches are checked by tests on standard bacterial cultures. For those who wish to perform their own quality control tests, cultures mentioned in the table **Control strains** are recommended. **These strains are used to check the functionality of the kit, not to check the accuracy or success of the identification!**

- *Enterococcus raffinosus* CCM 4216 (ATCC 49427)
- *Enterococcus durans* CCM 5612 (ATCC 19432)

These strains are supplied by the CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz. The strains are delivered in a lyophilized form or on gelatinized disks.

Control strains

CCM No.	Column/Abbreviation of the test							
	H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ
4216	–	+	+	+	+	+	+	+
5612	+	–	–	–	–	–	–	–

Interpretation of reactions

Column	Test	Abbreviation of the test	Reaction	
			positive	negative
H	Arginine	ARG	red-to-violet, red	yellow, pale orange
G	Sorbose	SOE	yellow, pale orange	red, orange-to-red
F	Arabinose	ARA	yellow, pale orange	red, orange-to-red
E	Mannitol	MAN	yellow, pale orange	red, orange-to-red
D	Sorbitol	SOR	yellow, pale orange	red, orange-to-red
C	Melibiose	MLB	yellow, pale orange	red, orange-to-red
B	Raffinose	RAF	yellow, pale orange	red, orange-to-red
A	Mellezitose	MLZ	yellow, pale orange	red, orange-to-red

Health protection:

Components of the kit are not classified as dangerous.

Differentiation table

V. 1.0

EN-COCCUStest										Identification	Additional characters								
H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ	PIG	MOT	SUC	RIB	LAC	TEL	SSD	PYR	HEM			
+	-	-	+	+	-	-	(+)	Enterococcus faecalis	-	-	+	+	+	+	+	+	β 6%		
+	-	+	+	(-)	(+)	(-)	-	Enterococcus faecium	-	-	(+)	+	+	-	+	+	β 0%		
+	-	+	+	d	+	(+)	-	Enterococcus mundtii	+	-	+	+	+	-	+	+			
-	+	+	+	+	+	+	+	Enterococcus raffinosus	-	-	+	+	+	-	+	+			
-	+	+	+	+	-	-	+	Enterococcus avium	-	-	+	+	+	-	d	+			
d	-	+	+	d	+	+	-	Enterococcus casseliflavus	+	+	+	+	+	-	+	+	α		
+	-	+	+	-	+	+	-	Enterococcus gallinarum	-	+	+	+	+	-	+	+			
+	-	-	-	-	d	-	-	Enterococcus durans	-	-	-	+	+	-	+	+	β 70%		
+	-	-	-	-	(+)	d	-	Enterococcus hirae	-	-	(+)	+	+	-	d	+	β 0%		
+	-	-	-	-	-	-	d	E. faecalis asaccharolytic var.	-	-	-	+	+	+	+	+			
-	+	-	+	+	(+)	+	-	Enterococcus malodoratus	-	-	+	+	+	-	d	+			
-	+	-	+	+	-	-	-	Enterococcus pseudoavium	-	-	+	+	+	-	d	+			
-	-	-	d	d	d	+	d	Enterococcus cecorum	-	-	+	+	+	n	-	-			
-	-	(+)	+	(+)	d	+	(-)	Enterococcus columbae	-	-	n	+	+	n	-	-			
+	-	-	-	-	-	+	-	Enterococcus dispar	-	-	+	+	+	-	-	+			
-	(-)	-	+	+	+	+	+	Enterococcus saccharolyticus	-	-	+	+	+	n	-	-			
+	-	-	+	+	(-)	-	+	Enterococcus solitarius	-	-	+	n	-	n	+	+			
-	-	-	-	-	d	+	+	Enterococcus sulfureus	+	-	+	+	+	-	-	+			

Legend:

- + = positive reaction - = negative reaction d = variable reaction
 (+) = prevailingly positive reaction (-) = prevailingly negative reaction n = unknown reaction
 PIG = formation of yellow pigment RIB = ribose SSD = serological group
 MOT = motion LAC = lactose PYR = pyrrolidonylarylamidase
 SUC = sacchare TEL = tellurite D HEM = haemolysis

E. durans, *E. hirae*, *E. faecalis asaccharolytic var.* belong to the group III *Enterococcus*

(FACKLAM, R. R., and COLLINS, M. D. 1989:

Identification of *Enterococcus species* isolated from human infections by a conventional test scheme. J. Clin. Microbiol. 27, 731–734).

The strains that could not be identified as belonging to any of the three species mentioned, should be identified as members of the *Enterococcus* Group III.

USED SYMBOLS



Catalogue number



In vitro diagnostics



Manufacturer



See instruction for use



Lot number



Storage temperature



Expiry date



ЭН-КОККУСтест

- определение энтерококков

(RU)

Ном. но.: MLT00004

Для микробиологии

Набор ЭН-КОККУСтест предназначен для биохимической идентификации клинически значимых представителей рода Энтерококков при помощи восьми биохимических тестов: аргинин, сорбоза, арабиноза, маннитол, сорбитол, мелибиоза, раффиноза и мелецитоза, помещенных в однорядные 8-луночные стрипы микротитровальной 96-луночной пластинки. Для выявления типичного для рода Энтерококков теста – активности пирролидониллариламида – предназначен ПИРАтест, поставляемый в форме диагностической полоски.

Набор ЭН-КОККУСтест содержит:

- 3 микротитровальные пластины (каждая для идентификации 12 штаммов) с силикагелем
- Инструкция для пользователя с Идентификационной таблицей
- Цветная шкала для ЭН-КОККУСтест
- 3 полиэтиленовых пакетика для инкубации
- Пакет для хранения частично использованной пластины
- 36 бланков для регистрации результатов
- Крышка

Хранение, срок годности:

ЭН-КОККУСтест следует хранить при температуре от +2 до +25 °C. Срок годности указан на каждой упаковке.

Инструкция к постановке ЭН-КОККУСтест

Материалы (не входят в набор):

- Парафиновое масло стерильное, Ном. но.: MLT00042 – более чем для 750 определений
- ПИРАтест, Ном. но.: MLT00040 – диагностические полоски для выявления пирролидониллариламида (тест ПИР) – 50 определений
- Реактив для теста ПИР, Ном. но.: MLT00023
- Прибор ДЕНСИЛАМЕТР II, Ном. но.: INS00062 или пробирки с суспензией 2 степени мутности по шкале McFarland (0,2 мл 1% раствора BaCl₂·2H₂O и 9,8 мл 1% раствора H₂SO₄)
- Чашки Петри с кровяным агаром
- Пробирки (100 x 15) мм с 1,2 мл стерильного физиологического раствора
- Автоматическая микропипетка 0,1 мл, стерильные наконечники
- Термостат на (35–37) °C
- Традиционное оснащение микробиологической лаборатории (петли, маркеры, горелка)

Пособия для идентификации (не входят в набор):

- Книга кодов для ЭН-КОККУСтест – расположена по адресу www.eralachema.com (раздел Микробиология)
- Программа идентификации ErbaExpert

Предупреждение:

- Набор предназначен только для квалифицированного использования в микробиологической лаборатории.

Строго соблюдать правила работы с инфицированным материалом!

Выделение культуры:

- Выделите чистую культуру, пользуясь общепринятыми в микробиологии методами на агаре с кровью барана. Для первичной изоляции энтерококков из клинического материала можно использовать селективную среду, напр. Slanetz-Bartley агар.
- Учтите морфологию чистой культуры, гемолитическую активность на кровяном агаре, поставьте тест для выявления каталазной активности и активности пирролидониллариламида (тест ПИР, диагностическая полоска ПИРАтест), или же другие тесты для подтверждения принадлежности изолята к роду Энтерококков (серологическая группа D (примечание: могут получиться штаммы энтерококков серологической группы Q и/или без группового антигена) и др.).
- Изоляты, принадлежащие к роду Энтерококков, идентифицируйте, пользуясь набором ЭН-КОККУСтест.

Приготовление бактериальной суспензии:

- Из чистой 24 часовой культуры приготовьте суспензию в физиологическом растворе.
- Тщательно гомогенизируйте суспензию.
- Мутность суспензии должна соответствовать 2 степени мутности по шкале McFarland. Более жидкая или более густая суспензия может привести к ложным реакциям.
- Параллельно сделайте посев суспензии культуры на неселективную среду для проверки чистоты культуры, ее ростовых свойств и/или для постановки дополнительных тестов; инкубируйте в течение 24 часов при температуре 37 °C.

Примечание:

- Для получения требуемой суспензии можно применять ватные тампоны.

Подготовка стриппированных пластинок:

- Откройте алюминиевую упаковку по сварному шву.
- Достаньте пластинку из алюминиевого пакета.
- Возьмите необходимое количество стрипов из пластиинки.
(1 стрип, т.е. 8 тестов, на одну культуру).
- Удалите адгезивную пленку с индивидуальных стрипов, вставьте их в подготовленную рамку.
В том случае, если Вы работаете с набором Микро-Ла-Тест® впервые, и у Вас нет свободной рамки, используйте рамку первой пластиинки. Неиспользованные стрипы из первой пластиинки поместите в пакет для хранения неиспользованных пластиинок.
- Напишите номера штаммов на соответствующие стрипы.
- Остаток неиспользованных стрипов с силикагелем поместите в алюминиевый пакет для частично использованных пластиинок и положите в холодильник для последующего использования; пластиинку необходимо предохранять от влаги. Не рекомендуется хранить пластиинку более 4 недель с момента ее вскрытия.
- Рамку с крышкой дезинфицируйте после каждого употребления спиртом.

Примечание:

неравномерное распределение субстрата в лунке не влияет на функциональность теста.

Инокуляция:

- Суспензию бактерий тщательно встряхните.
- Инокулируйте по 0,1 мл суспензии во все лунки соответствующего ряда пластиинки.
- Исключите возможность заражения соседних лунок.
- После инокуляции в лунки колонки Н (тест аргинин) добавьте по 2 капли парафинового масла.

Инкубация:

- После инокуляции закройте пластиинку крышкой или предохранительной пленкой.
- Вложите пластиинку в пакет из полиэтилена, открытый конец пакета загните под пластиинку, чтобы инокулят не высыпал при инкубации.
- Инкубируйте инокулированную пластиинку в течение 24 часов при температуре (35–37) °C.

Учет результата:

- Проверьте рост и чистоту культуры на контрольной чашке Петри.
- Учтите результаты всех реакций ЭН-КОККУСтест и занесите в бланки.
- При оценке ЭН-КОККУСтест ориентируйтесь по таблице "Интерпретация реакций", Цветной шкале сравнения и/или по цветным реакциям контрольных штаммов.

Идентификация:

- Идентификацию проводите с помощью "Идентификационной таблицы", "Индекса" или при помощи компьютерных программ "Система микробиологического мониторинга "Микроб 2" со встроенной "Идентификацией" и "Микроб-Автомат".
- При окончательной идентификации следует учитывать всю дополнительную информацию (источник выделения, микроскопию, характер колоний и т.д.). Образование желтого пигмента и подвижность являются важными признаками при идентификации энтерококков.
- В случае неудачной идентификации следует повторить ЭН-КОККУСтест или же дополнить идентификацию, используя другие тесты.

Дезинфекция:

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

Наиболее частые причины неудач при идентификации:

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

Идентификация:

- Индекс служит для быстрой и стандартной интерпретации результатов реакций ЭН-КОККУСтест и содержит типичные результаты тестов, характерные для этой группы.
- Результаты и их интерпретации в Индексе упорядочены по значению профиля, т.е. числового кода, выражающего результат реакций всех тестов. Бланк для регистрации результатов облегчает расчет профиля.

Процесс расчета профиля:

- Результаты отмеченные в бланке для регистрации результатов подразделены на три группы (2 группы по три теста и 1-из двух тестов).
- В каждой группе положительным тестам дают числовые значения: первому тесту – 1, второму – 2, третьему – 4. Всем отрицательным результатам дается значение 0.
- Выполняя расчет профиля, следует просуммировать в каждой группе тестов значения отдельных тестов с положительной реакцией. Сумму записывают в соответствующую клетку "Профиль" в бланке.

Пример расчета профиля:

H ARG 1	G SOE 2	F ARA 4	E MAN 1	D SOR 2	C MLB 4	B RAF 1	A MLZ 2
+	-	-	+	+	-	-	-
1	(0)	(0)	1	2	(0)	(0)	(0)
	1			3		0	

- ЭН-КОККУСтест
- числ. значения тестов
- результаты реакций
- числовая оценка тестов
- **профиль**

В Индексе полученному значению профиля 130 соответствует идентификация:
Enterococcus faecalis.

Контроль качества:

Химический контроль качества реактивов, используемых при производстве ЭН-КОККУСтест, осуществляется стандартными методами. Производственные партии пластинок контролируются с помощью контрольных референтных бактериальных культур. Для работы с пластинками ЭН-КОККУСтест в лаборатории рекомандуем использовать следующие контрольные штаммы (показаны в таблице **Контрольные штаммы**). Для контроля функциональности набора необходимо всегда пользоваться свежими изолятами штаммов. **Данные штаммы служат для контроля функциональности набора, а не для контроля идентификации!**

- *Enterococcus raffinosus* CCM 4216 (ATCC 49427)
- *Enterococcus durans* CCM 5612 (ATCC 19432)

CCM – Чешская коллекция микроорганизмов
ГИСК, Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича, г. Москва, телефон 8 (499) 241-31-19

Контрольные штаммы

CCM No.	Колонка/Коды тестов							
	H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ
4216	-	+	+	+	+	+	+	+
5612	+	-	-	-	-	-	-	-

Пояснения:

- + = положительная реакция,
- = отрицательная реакция

Интерпретация реакций

Колонка	Тест	Код	Реакция	
			положительная	отрицательная
H	Аргинин	ARG	красно-фиолетовая, красная	желтая, светло оранжевая
G	Сорбоза	SOE	желтая, светло оранжевая	красная, оранжево-красная
F	Арабиноза	ARA	желтая, светло оранжевая	красная, оранжево-красная
E	Маннитол	MAN	желтая, светло оранжевая	красная, оранжево-красная
D	Сорбитол	SOR	желтая, светло оранжевая	красная, оранжево-красная
C	Мелибиоза	MLB	желтая, светло оранжевая	красная, оранжево-красная
B	Раффиноза	RAF	желтая, светло оранжевая	красная, оранжево-красная
A	Мелецизоза	MLZ	желтая, светло оранжевая	красная, оранжево-красная

Меры предосторожности:

Набор реагентов не относится к категории опасных.

ИДЕНТИФИКАЦИОННАЯ ТАБЛИЦА

в. 1.0

EN-COCCUStest									Идентификация	Дополнительные тесты							
H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ	PIG	MOT	SUC	RIB	LAC	TEL	SSD	PYR	HEM	
+	-	-	+	+	-	-	(+)	Enterococcus faecalis	-	-	+	+	+	+	+	+	β 6%
+	-	+	+	(-)	(+)	(-)	-	Enterococcus faecium	-	-	(+)	+	+	-	+	+	β 0%
+	-	+	+	d	+	(+)	-	Enterococcus mundtii	+	-	+	+	+	-	+	+	
-	+	+	+	+	+	+	+	Enterococcus raffinosus	-	-	+	+	+	-	+	+	
-	+	+	+	+	-	-	+	Enterococcus avium	-	-	+	+	+	-	d	+	
d	-	+	+	d	+	+	-	Enterococcus casseliflavus	+	+	+	+	+	-	+	+	α
+	-	+	+	-	+	+	-	Enterococcus gallinarum	-	+	+	+	+	-	+	+	
+	-	-	-	-	d	-	-	Enterococcus durans	-	-	-	+	+	-	+	+	β 70%
+	-	-	-	-	(+)	d	-	Enterococcus hirae	-	-	(+)	+	+	-	d	+	β 0%
+	-	-	-	-	-	-	d	E. faecalis asaccharolytic var.	-	-	-	+	+	+	+	+	
-	+	-	+	+	(+)	+	-	Enterococcus malodoratus	-	-	+	+	+	-	d	+	
-	+	-	+	+	-	-	-	Enterococcus pseudoavium	-	-	+	+	+	-	d	+	
-	-	-	d	d	d	+	d	Enterococcus cecorum	-	-	+	+	+	n	-	-	
-	-	(+)	+	(+)	d	+	(-)	Enterococcus columbae	-	-	n	+	+	n	-	-	
+	-	-	-	-	-	+	-	Enterococcus dispar	-	-	+	+	+	-	-	+	
-	(-)	-	+	+	+	+	+	Enterococcus saccharolyticus	-	-	+	+	+	n	-	-	
+	-	-	+	+	(-)	-	+	Enterococcus solitarius	-	-	+	n	-	n	+	+	
-	-	-	-	-	d	+	+	Enterococcus sulfureus	+	-	+	+	+	-	-	+	

Пояснения: + = положительная реакция - = отрицательная реакция d = вариабельная реакция

(+) = большей частью положительная реакция (-) = большей частью отрицательная реакция

n = неизвестная реакция

PIG = образование желтого пигмента

RIB = рибоза

SSD = серологическая группа D

MOT = подвижность

LAC = лактоза

PYR = пирролидонилариламида

SUC = сахароза

TEL = теллурит

HEM = гемолиз

E. durans, *E. hirae*, *E. faecalis asaccharolytic* var. принадлежат к группе *Enterococcus* Group III.

(FACKLAM, R. R. and COLLINS, M. D. 1989:

Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme.

J. Clin. Microbiol. 27, 731-734)

Штаммы, принадлежность которых не удалось достоверно отнести к одному из 3 указанных видов, следует идентифицировать как *Enterococcus* Group III.

Артикул	Наименование как в РУ	Номер РУ	Дата выдачи РУ
MLT00004	ЭН-КОККУСтест - определение энтерококков	ФСЗ 2010/07333	от 30.06.2010

Используемые символы

REF Каталожный номер

LOT Номер партии

Срок годности

Перед использованием внимательно изучайте инструкцию

IVD Ин витро диагностика

Производитель

Температура хранения



EN-COCCUStest



Kat. č. MLT0004

Pre mikrobiológiu

Súprava EN-COCCUStest je určená na rutinnú druhovú identifikáciu významných zástupcov rodu *Enterococcus*. Súprava umožňuje vykonať identifikáciu 36 kmeňov, pomocou ôsmych biochemických testov: arginín, sorbóza, arabinóza, manitol, sorbitol, melibóza, rafinóza, melezítóza. Na detekciu znaku charakteristického pre rod *Enterococcus* – aktivity pyrrolidonylarylamidázy – je určený PYRAtest, dodávaný vo forme detekčného prúžka.

Súprava EN-COCCUStest obsahuje:

- 3 mikrotitračné doštičky (každá na identifikáciu 12 kmeňov) so sušidlom
- Návod na použitie s diferenciacaľnou tabuľkou
- Farebná porovnávacia stupnica pre súpravu EN-COCCUStest
- 3 PE vrecúška na inkubáciu
- Skladovací sáčok (na uloženie nezužitkovanej doštičky), 1 ks
- 36 formulárov na záznam výsledkov
- Viečko

Skladovanie, exspirácia:

EN-COCCUStest je potrebné skladovať pri teplote (+2 až +25) °C. Exspirácia je vyznačená na každom balení.

Odporučený pracovný postup na EN-COCCUStest

Potreby pri práci so súpravou EN-COCCUStest,

ktoré nie sú súčasťou súpravy:

- Sterilizovaný parafínový olej (kat. č. MLT00042 – 750 stanovení)
- Petriho misky s krvným agarom
- Skúmavky (100 x 15) mm s 1,2 ml sterilného fyziologického roztoku
- Prístroj DENSILAMETER II, kat. č.: INS00062
- Automatická mikropipeta 0,1ml, sterilné špičky
- Termostat (35–37) °C
- Bežné laboratórne mikrobiologické vybavenie (tyčinky, popisovače, kahan)

Identifikačné pomôcky, ktoré nie sú súčasťou súpravy:

- Kódová kniha pre súpravu EN-COCCUStest - umiestnená na www.eralachema.com
- Identifikačný program ErbaExpert

Potreby pre detekciu aktivity pyrrolidonylarylamidázy:

- PYRAtest (kat. č. MLT00040 – 50 stanovení)
- Činidlo na test PYR (kat. č. MLT00023)
- Súprava je určená iba na profesionálne použitie

Dodržujte zásady bezpečnosti práce s infekčným materiálom!

Izolácia kultúr:

- Izoláciu kultúr vykonajte konvenčnou bakteriologickej technikou na krvnom agare.
- Posúđte morfológiu čistej kultúry, hemolytickú aktivitu na krvnom agare, vykonajte test na detekciu aktivity pyrrolidonylarylamidázy (test PYR, detekčný prúžok PYRAtest), prípadne ďalšie testy na potvrdenie príslušnosti izolátu k rodu *Enterococcus* [sérologická skupina D (ev. sa môžu vyskytnúť kmene enterokokov sérologickej skupiny Q alebo bez skupinového antigénu), atď.].
- Izoláty, príslušenstvo k rodu *Enterococcus*, identifikujte pomocou súpravy EN-COCCUStest.

Príprava inokula:

- Z čistej 24 h kultúry pripravte vo fyziologickom roztoku suspenziu. Suspenziu dobre homogenizujte.
- Zákal suspenzie musí zodpovedať 2. stupňu McFarlandovej zákalovej stupnice. Slabšia alebo hustejšia suspenzia môže viesť k falošným reakciám.

Poznámka:

- Po dosiahnutí požadovanej hustoty suspenzie odporučujeme použiť na prípravu suspenzie odberové tampóny.

Posúdenie čistoty kultúry:

- Tou istou tyčinkou ako ste pripravili suspenziu vykonajte súčasne križový rozter. Po 24 hodinách inkubácie skontrolujte čistotu kultúry. V prípade slabého nárastu kultúry predĺžte inkubáciu o ďalších 24 hodín.

Príprava doštičky EN-COCCUStest:

- Otvorte alumíniový sáčok odstrihnutím tesně vedľa zvaru a vyberte doštičku.
- Pomocou skalpela odrezte príslušný počet radov (stripov) doštičky, odpovedajúc počtu testovaných kmeňov (1 riadok, tj. 8 jamiek, na identifikáciu jedného kmeňa).
- Vyrezané rady vyberte doštičky, odstráňte ochrannú Al foliu, rady umiestnite do pripraveného prázdnego rámkika. V prípade, že so súpravou MIKROLATEST® pracujete prvý raz a prázdný rámk nemáte k dispozícii, použite rámkik prvej doštičky. Nevyužité stripky prvej doštičky potom uložte voľne v skladovacom sáčku.
- Zaznamenajte čísla vyšetrovaných kultúr na príslušné stripky.

- Zbytok doštičky so sušidlom vložte do priloženého alumíniového sáčka na uloženie nezúžitkovej doštičky a uložte do chladničky na ďalšie použitie; dbajte na to, aby doštička bola chránená pred vlhkostou. Odporučame doštičku po prvom použití spotrebovať do 4 týždňov.

Poznámka:

Prípadné nerovnomerné rozloženie substrátu v jamke nemá vplyv na funkčnosť testu.

Inokulácia:

- Bakteriálnou supenziou pred použitím dôkladne zatrepte.
- Inokulujte 0,1 ml suspenzie do všetkých jamiek príslušného riadka doštičky. Pri inokulácii dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii susedných jamiek.
- K jamkám stĺpca H (test arginín) pridajte po inokulácii 2 kvapky sterilného parafínového oleja.

Poznámka:

- S každou sériou neznámych kmeňov a pri použití novej šarže doštičiek EN-COCCUStest naočkujte súčasne kontrolné kmene po overení farebného vyjadrenia pozitívnych a negatívnych reakcií; po overení negatívnych reakcií je možné zakvapkať 1 riadok sterilným fyziologickým roztokom.

Poznámka:

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

Inkubácia:

- Vložte rámk s naočkovanými radmi do inkubačného PE vrecúška.
- Otvorený koniec vrecúška zahnite pod doštičku, aby nedošlo k vysychaniu inokula.
- EN-COCCUStest vložte do termostatu, nastaveného na teplotu (35–37) °C, a inkubujte 24 h.

Hodnotenie:

- Prečítajte všetky testy a výsledok zaznamenajte do formulára na záznam výsledkov.
- Na hodnotenie farebných reakcií použíte tabuľku Interpretácie reakcií, farebnú porovnávaciu stupnicu na súpravu EN-COCCUStest alebo sa orientujte podľa farebných reakcií kontrolného kmeňa.

Identifikácia:

- Identifikáciu realizujte pomocou diferenciačnej tabuľky alebo pomocou Indexu.
- Pri identifikácii posudzujte kultúru komplexne, s prihládnutím na pôvod izolátu, morfologicke a ďalšie znaky; tvorba žltého pigmentu a pohyb sú dôležitými znakmi druhovej identifikácie enterokokov.
- V prípade neúspešnej identifikácie opakujte EN-COCCUStest, prípadne pošlite izolát na identifikáciu do NRL na streptokoky a enterokoky SZÚ.

Likvidácia použitého materiálu:

- Po použití vložte doštičku do nádoby na infekčný materiál a autoklávujte alebo zničte spálením. Prázdne papierové obaly dajte do zberu k recyklácii.

Najčastejšie možné príčiny neúspechu pri identifikácii:

- Zmiešaná alebo kontaminovaná kultúra.
- Použitie inokula malej hustoty alebo malého objemu.
- Inokulum bolo rozstreknuté i do susedného radu.
- Test arginín neboli prevrstvený parafínovým olejom.
- Nedodržanie niektorého bodu z odporučeného pracovného postupu.
- Môže sa jedať o atypický kmeň alebo zástupcu druhu, ktorý neboli zahrnutý do Diferenciačnej tabuľky a Indexu.

Identifikácia pomocou Indexu:

- Index slúži na rýchlu a štandardnú interpretáciu výsledkov reakcií EN-COCCUStestu; zahrnuje atypické výsledky enterokokov z klinického materiálu (druhy zahrnuté do indexu sú v Diferenciačnej tabuľke vyznačené hrubým písmom).
- Výsledky reakcií a ich interpretácie sú v Indexe zoradené podľa hodnoty profilu, čo je číselný kód, jednoznačne vyjadrujúci výsledok reakcií všetkých testov súpravy EN-COCCUStest; formulár na záznam výsledkov uľahčuje výpočet profilu.

Postup pri výpočte profilu:

- Výsledky, zaznamenané do formulára na záznam výsledkov, sú rozdelené do troch skupín (2 trojice a 1 dvojica testov).
- V každej skupine sú testom priradené čísla 1, 2 a 4.
- Pri výpočte sčítajte v každej skupine testov hodnoty čísel testov s pozitívou reakciou (testom s negatívou reakciou sa priraďuje hodnota nula).
- Súčet zapíšte do príslušného polička riadka „Profil“ vo formulári.
- Výsledné 3-ciferné číslo = Profil.

Príklad výpočtu profilu:

H ARG 1	G SOE 2	F ARA 4	E MAN 1	D SOR 2	C MLB 4	B RAF 1	A MLZ 2
+	-	-	+	+	-	-	-
1	(0)	(0)	1	2	(0)	(0)	(0)
1			3			0	

– EN-COCCUStest
– číselné hodnoty testov
– výsledky reakcií
– súčet hodnôt
– profil

V Indexe sa nachádzajúca identifikácia, zodpovedajúca hodnote profilu 130: *Enterococcus faecalis*.

Kontrola kvality testov:

Kvalita chemikálií používaných na výrobu doštičiek EN-COCCUStest je overovaná štandardným testovacím postupom. Vyrobéné súrie doštičiek sú taktiež kontrolované funkčnou skúškou pomocou kontrolných bakteriálnych kmeňov. Na prácu s doštičkami EN-COCCUStest na Vašom pracovisku odporučujeme použiť kontrolných kmeňov, uvedených v tabuľke **Kontrolné kmene**. Taktiež pre rutinnú diagnostiku praxou odporučujeme používať tieto štandardné testovacie kmene na overenie správnosti metodického postupu, priebehu testov a farebného vyjadrenia reakcií. Na kontrolu funkčnosti súpravy je nutné použiť vždy čerstvě izolatív kmeňov. **Pozor - tieto kmene slúži iba na kontrolu funkčnosti súpravy, nie na kontrolu správnosti, či úspešnosti identifikácie!**

- *Enterococcus raffinosus CCM 4216 (ATCC 49427)*
- *Enterococcus durans CCM 5612 (ATCC 19432)*

Tieto kmene dodáva CCM – Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Přírodovedecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz.

Kmene sú dodávané v lyofilizovanom stave alebo na želatinových diskoch.

Kontrolné kmene

CCM No.	Stípec/Skratka testu							
	H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ
4216	–	+	+	+	+	+	+	+
5612	+	–	–	–	–	–	–	–

Interpretácia reakcií

Stípec	Test	Skratka testu	Reakcia	
			pozitívna	negatívna
H	Arginin	ARG	červenofialová, červená	žltá, bledooranžová
G	Sorbóza	SOE	žltá, bledooranžová	červená, oranžovočervená
F	Arabinóza	ARA	žltá, bledooranžová	červená, oranžovočervená
E	Mannitol	MAN	žltá, bledooranžová	červená, oranžovočervená
D	Sorbitol	SOR	žltá, bledooranžová	červená, oranžovočervená
C	Melibióza	MLB	žltá, bledooranžová	červená, oranžovočervená
B	Raffinóza	RAF	žltá, bledooranžová	červená, oranžovočervená
A	Melezitóza	MLZ	žltá, bledooranžová	červená, oranžovočervená

Ochrana zdravia:

Komponenty súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné.

Diferenciačná tabuľka

V. 1.0

EN-COCCUStest										Identifikácia	Dodatkové znaky							
H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ	PIG	MOT	SUC	RIB	LAC	TEL	SSD	PYR	HEM		
+	-	-	+	+	-	-	(+)	Enterococcus faecalis	-	-	+	+	+	+	+	+	β 6%	
+	-	+	+	(-)	(+)	(-)	-	Enterococcus faecium	-	-	(+)	+	+	-	+	+	β 0%	
+	-	+	+	d	+	(+)	-	Enterococcus mundtii	+	-	+	+	+	-	+	+		
-	+	+	+	+	+	+	+	Enterococcus raffinosus	-	-	+	+	+	-	+	+		
-	+	+	+	+	-	-	+	Enterococcus avium	-	-	+	+	+	-	d	+		
d	-	+	+	d	+	+	-	Enterococcus casseliflavus	+	+	+	+	+	-	+	+	α	
+	-	+	+	-	+	+	-	Enterococcus gallinarum	-	+	+	+	+	-	+	+		
+	-	-	-	-	d	-	-	Enterococcus durans	-	-	-	+	+	-	+	+	β 70%	
+	-	-	-	-	(+)	d	-	Enterococcus hirae	-	-	(+)	+	+	-	d	+	β 0%	
+	-	-	-	-	-	-	d	E. faecalis asaccharolytic var.	-	-	-	+	+	+	+	+		
-	+	-	+	+	(+)	+	-	Enterococcus malodoratus	-	-	+	+	+	-	d	+		
-	+	-	+	+	-	-	-	Enterococcus pseudoavium	-	-	+	+	+	-	d	+		
-	-	-	d	d	d	+	d	Enterococcus cecorum	-	-	+	+	+	n	-	-		
-	-	(+)	+	(+)	d	+	(-)	Enterococcus columbae	-	-	n	+	+	n	-	-		
+	-	-	-	-	-	+	-	Enterococcus dispar	-	-	+	+	+	-	-	+		
-	(-)	-	+	+	+	+	+	Enterococcus saccharolyticus	-	-	+	+	+	n	-	-		
+	-	-	+	+	(-)	-	+	Enterococcus solitarius	-	-	+	n	-	n	+	+		
-	-	-	-	-	d	+	+	Enterococcus sulfureus	+	-	+	+	+	-	-	+		

Vysvetlivky: + = pozitívna reakcia

- = negatívna reakcia

d = variabilná reakcia

(+) = väčšinou pozitívna reakcia

(-) = väčšinou negatívna reakcia

n = neznáma reakcia

PIG = tvorba žltého pigmentu

RIB = ribóza

SSD = sérologická skupina D

MOT = pohyb

LAC = laktóza

PYR = pyrrolidonylarylamidáza

SUC = sacharóza

TEL = telurid

HEM = hemolýza

E. durans, *E. hirae*, *E. faecalis asaccharolytic var.* patria do skupiny *Enterococcus Group III*

(FACKLAM, R. R. and COLLINS, M. D. 1989:

Identification of *Enterococcus species* isolated from human infections by a conventional test scheme.

J. Clin. Microbiol. 27, 731–734)

Kmene, ktoré nie sú jednoznačne priradené do jedného z troch uvedených druhov, identifikujte ako členy *Enterococcus Group III*.

POUŽITÉ SYMBOLY

REF Katalógové číslo

IVD In vitro diagnostikum

Výrobca

Čítajte návod k použitiu

LOT Cílos šarže

Teplota skladovania

Dátum expirácie



EN-COCCUStest

(PL)

Nr kat.: MLT00004

Do celów mikrobiologicznych

Zestaw EN-COCCUStest przeznaczony jest do rutynowej (w ciągu 24 godzin) identyfikacji ważnych gatunków z rodzaju *Enterococcus*. Zestaw umożliwia identyfikację 36 szczeprów, każdy za pomocą ośmiu testów biochemicznych: arginina, sorboza, arabinosa, mannosu, sorbitolu, melibioza, raffinoza oraz melezytozu.

Do oznaczania cech charakterystycznej dla rodzaju *Enterococcus* – aktywności arylamidazy pyrrolidonylowej – przeznaczony jest PYRAtest, dostarczany w formie paska detekcyjnego.

Zestaw EN-COCCUStest zawiera:

- 3 panele identyfikacyjne (każdy do identyfikacji 12 szczeprów) z wysuszaczem
- Instrukcję obsługi wraz z tabelą różnicującą
- Porównawczą skalę barw dla EN-COCCUStest
- 3 PE torebki do inkubacji
- Torebkę do przechowywania przeznaczoną do ułożenia niezużytej reszty płytki, 1szt.
- 36 formularzy do wpisywania wyników
- Pokrywę

Przechowywanie, termin ważności:

Zestaw EN-COCCUStest należy przechowywać w temperaturze +2 do +25 °C. Termin ważności podany jest na każdym opakowaniu.

Zalecany sposób postępowania dla EN-COCCUStest**Materiały potrzebne do pracy z zestawem EN-COCCUStest,****które nie wchodzą w skład zestawu:**

- Sterylizowany olej parafinowy, nr kat. MLT00042 – 750 oznaczeń/1op.
- Szalki Petriego z agarem z krwią
- Probówki 100 x 15 mm z 1,2 ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej
- Urządzenie DENSILAMETER II (nr kat. INS00062)
- Automatyczna mikropipeta 0,1 ml, sterylne końcówki
- Cieplarka 37 °C
- Zwykły sprzęt laboratoryjny (ezzy, markery, palnik)

Niezbędne pomoce identyfikacyjne, które nie wchodzą w skład zestawu:

- Księgówka kodów do EN-COCCUStest - znajduje się na stronie www.eralachema.com (sekcja poświęcona mikrobiologii)
- Program identyfikacyjny ErbaExpert

Test potrzebny do oznaczania**aktywności pyrrolidonylarylamidazy:**

- PYRA test, nr. kat. MLT00040 – 50 oznaczeń/1 op.
- Odczynnik do testu PYR, nr. kat. MLT00023

Uwaga:

- Zestaw przeznaczony jest do profesjonalnego zastosowania

Przestrzegaj zasad pracy z materiałem zakaźnym!**Izolowanie kultury:**

- Izolowanie bakterii powinno zostać przeprowadzone tradycyjną techniką na agarze z krwią
- Należy ocenić morfologię czystej kultury, hemolityczną aktywność na agarze z krwią, przeprowadzić test do oznaczania aktywności arylamidazy pyrrolidonylowej (test PYR, pasek detekcyjny PYRAtest), ewentualnie kolejne testy celem potwierdzenia przynależności izolowanej bakterii do rodzaju *Enterococcus* (grupa serologiczna D (ewentualnie mogą pojawiać się szczeupy rodzaju *Enterococcus* grupy serologicznej Q lub także bez grupowego antygenu) itd.).

Przygotowanie inokulum:

- Sporządzić zawiesinę bakteryjną w roztworze soli fizjologicznej z czystej, 24-godzinnej hodowli.
- Zawiesina powinna być dobrze wymieszana oraz wykazywać zmętnienie równe 2 w skali zmętnienia McFarlanda. Słabsza lub silniejsza zawiesina może doprowadzić do fałszywych reakcji.
- Uwaga: Dla osiągnięcia wymaganej gęstości zawiesiny zalecane jest zastosowanie wymazówek do przygotowania zawiesiny.

Kontrola czystości hodowli:

- Tą samą ezą rozprowadzić (wysiew krzyżowy) próbkę roztworu z zawiesiną na agarze krwawym. Czystość hodowli należy kontrolować po 24 godzinach inkubacji. Hodowla kontrolna może zostać wykorzystana do przeprowadzenia testów uzupełniających.

Przygotowanie panelu zestawu**EN-COCCUStest:**

- Otworzyć ALU torebkę poprzez odcięcie brzegu torebki obok miejsca spawu oraz wyjąć płytke.
- Przy pomocy skalpela należy odciąć odpowiednią ilość pasków płytki, zgodnie z ilością badanych szczeprów (1 rzad, tj. 8 studzienek do identyfikacji jednego szczepru).
- Odcięte paski należy wyjąć z panelu, zdjąć ochronną ALU folię, paski włożyć do pustej ramki. W przypadku pracy z zestawem MIKROLATEST® po raz pierwszy i niedysponowaniem wolną ramką, należy wyjąć niezużyte studzienki z pierwszej pełnej ramki, ułożyć luzem w torebce do przechowywania a ramkę tej pierwszej płytki wykorzystać do inkubacji.

- Wpisać nr badanych kultur na odpowiednie paski.
- Resztę niezużytej płytki z wysuszaczem włożyć do dołączonej ALU torebki przeznaczonej do włożenia

Uwaga:

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

niezużytej płytki i całość następnie włożyć do lodówki do kolejnego użycia; płytka należy chronić przed wilgocią. Zalecamy zużyć płytke do 4 tygodni od pierwszego zastosowania.

Inokulacja:

- Zawiesinę bakteryjną należy przed użyciem dokładnie wstrząsnąć
- Wykonać posiew 0,1 ml zawiesiny do wszystkich wgłębień odpowiedniego paska płytki
- Należy dbać, żeby nie kontaminować sąsiednich studzienek
- Po posiewie dodać sterylny olej parafinowy do studzienek kolumny H (test arginina) – 2 krople

Uwaga:

W przypadku każdej serii nieznanych szczepów oraz podczas zastosowania nowej serii płytEK EN-COCCUStest należy posiąć jednocześnie szczepy kontrolne celem sprawdzenia kolorów dodatkowych oraz ujemnych reakcji; celem sprawdzenia reakcji ujemnych można zakropić 1 rzad sterylnym roztworem fizjologicznym.

Uwaga:

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

Inkubacja:

- Umieścić ramkę z paskami w torebce z polietylu.
- Zagiąć otwarty brzeg torebki pod płytke, aby uniknąć wysychania podczas inkubacji.
- Inkubować płytke EN-COCCUStest w temp. 35-37°C przez 24 godziny.

Odczyt:

- Odczytać wyniki wszystkich testów i zapisać wyniki na arkuszu.
- Odczytać reakcje na podstawie tabeli „Interpretacja reakcji”, Porównawczej skali barw dla EN-COCCUStest i/lub reakcji barwnych szczepów kontrolnych.

Identyfikacja:

- Podczas identyfikacji należy korzystać z „Tabeli różnicującej” lub z pomocy Indeksu.
- Podczas identyfikacji należy oceniać hodowlę kompleksowo, uwzględniając pochodzenie izolowanego szczepu, morfologię oraz pozostałe cechy; wytwarzanie żółtego pigmentu oraz ruch są ważnymi cechami w przypadku identyfikacji rodzaju *Enterococcus* do gatunków.
- W razie niepowodzenia w identyfikacji bakterii powtórzyć powyższą procedurę, lub wysłać badany szczep do identyfikacji do Narodowego Laboratorium Referencyjnego dla rodzajów *Streptococcus* oraz *Enterococcus*.

Usuwanie wykorzystanych materiałów:

- Po zużyciu wszystkie ampułki, końcówki i paski należy wyszterylizować w autoklawie lub spalić.

Najczęstsze przyczyny niepowodzenia identyfikacji:

- Papierowe oraz tekturowe opakowania należy przekazać do recyklingu.
- Zanieczyszczona kultura.
- Zastosowano inokulum o niskiej gęstości lub za małą ilość inokulum.
- Inokulum zanieczyściło sąsiadujące paski.
- Test arginina nie został pokryty warstwą sterylnego oleju parafinowego.
- Nieprzestrzeganie kolejnych etapów zalecanej procedury.
- Możliwość obecności szczepu nietypowego lub obecności przedstawiciela gatunku nie znajdującego się w „Tabeli różnicującej”.

Identyfikacja z pomocą Indeksu:

- Indeks służy do szybkiej oraz standardowej interpretacji wyników reakcji EN-COCCUStestu; obejmuje typowe wyniki rodzaju *Enterococcus* z materiału klinicznego (gatunki, znajdujące się w Indeksie, są w Tabeli różnicującej wydrukowane wytluszczeniem drukiem)
- Wyniki reakcji oraz ich interpretacje są w Indeksie uporządkowane zgodnie z wartością profilu. Profil to numeryczny kod jednoznacznie wyrażający wynik reakcji wszystkich testów EN-COCCUStestu, formularz do zapisywania wyników ułatwia obliczenie profilu.

Sposób postępowania podczas obliczenia profilu:

- Wyniki, zapisywane do formularza, są podzielone na trzy grupy (2 tryplety + 1 para testów).
- W każdej grupie do dodatkowych testów należy wpisać wartości 1, 2 oraz 4.
- W przypadku obliczenia profilu należy sumować w każdej grupie testów wartości numeryczne testów zreakcją dodatnią (w przypadku testów ujemnych do wyniku należy wpisać wartość numeryczną 0)
- Sumę należy wpisać do odpowiedniego okna rzędu „Profil” formularza
- Wynikiem są trzy cyfry = Profil

Przykład obliczenia profilu:

H ARG 1	G SOE 2	F ARA 4	E MAN 1	D SOR 2	C MLB 4	B RAF 1	A MLZ 2	– EN-COCCUStest
+	–	–	+	+	–	–	–	– wyniki reakcji
1	(0)	(0)	1	2	(0)	(0)	(0)	– suma wartości
								– profil

(Przykładowo: w Indeksie, w przypadku identyfikacji z wartością numeryczną profilu 130, znajduje się szczep *Enterococcus faecalis*.)

Kontrola jakości EN-COCCUStest:

Jakość chemikaliów stosowanych do produkcji płytEK EN-COCCUStest sprawdzana jest przy użyciu standardowego sposobu testowania. Wyprodukowane partie płytEK sprawdzane są także za pomocą standardowych referencyjnych kultur bakteryjnych. Do pracy z płytKami EN-COCCUStest w Państwa laboratorium zalecamy zastosowanie szczepów kontrolnych wymienionych w tabeli **Szczepy kontrolne**. Także w celach rutynowej diagnostyki zalecamy zastosowanie tych standardowych szczepów kontrolnych do sprawdzenia prawidłowości sposobu postępowania, przebiegu testów i wyrażenia reakcji barwnych. Użycie szczepów kontrolnych zalecane jest w przypadku każdej serii nieznanych szczepów, w przypadku każdej nowej serii zestawu oraz zgodnie z systemem walidacji laboratorium. Do kontroli funkcjonalności zestawu niezbędne są świeże izolaty szczepów kontrolnych. **Uwaga – szczepy te służą wyłącznie do kontroli funkcjonalności zestawu, nie służą do kontroli prawidłowości lub powodzenia identyfikacji!**

Enterococcus raffinosus CCM 4216 (ATCC 49427)

Enterococcus durans CCM 5612 (ATCC 19432)

Szczepy dostarczane są w liofilizowanych ampułkach przez CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz

Szczepy kontrolne

CCM No.	Kolumna/Skrót testu							
	H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ
4216	–	+	+	+	+	+	+	+
5612	+	–	–	–	–	–	–	–

Interpretacja reakcji

Kolumna	Test	Skrót	Reakcja		ujemna
			dodatnia		
H	Arginina	ARG	Czerwono-fioletowa, czerwona		Żółta, jasno pomarańczowa
G	Sorboza	SOE	Żółta, blado pomarańczowa		Czerwona, pomarańczowo-czerwona
F	Arabinoza	ARA	Żółta, blado pomarańczowa		Czerwona, pomarańczowo-czerwona
E	Mannitol	MAN	Żółta, blado pomarańczowa		Czerwona, pomarańczowo-czerwona
D	Sorbitol	SOR	Żółta, blado pomarańczowa		Czerwona, pomarańczowo-czerwona
C	Melibioza	MLB	Żółta, blado pomarańczowa		Czerwona, pomarańczowo-czerwona
B	Raffinoza	RAF	Żółta, blado pomarańczowa		Czerwona, pomarańczowo-czerwona
A	Melezytoza	MLZ	Żółta, blado pomarańczowa		Czerwona, pomarańczowo-czerwona

WYTWÓRCA:

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 BRNO, REPUBLIKA Czeska

Przedstawicielstwo w Polsce: ERBA POLSKA Sp. z o.o., WDC ul. Szyszkowa 35/37, 02-285 Warszawa, tel.: +48 510 251 115, +48 228 783 150
fax: +48 228 783 150, e-mail: erbapolska@erbamannheim.com

Ochrona zdrowia:

Odczynniki zestawu nie są klasyfikowane jako niebezpieczne.

Tabela różnicująca

V. 1.0

EN-COCCUStest										Identyfikacja	Dodatkowe testy								
H ARG	G SOE	F ARA	E MAN	D SOR	C MLB	B RAF	A MLZ	PIG	MOT	SUC	RIB	LAC	TEL	SSD	PYR	HEM			
+	-	-	+	+	-	-	(+)	Enterococcus faecalis	-	-	+	+	+	+	+	+	β 6%		
+	-	+	+	(-)	(+)	(-)	-	Enterococcus faecium	-	-	(+)	+	+	-	+	+	β 0%		
+	-	+	+	d	+	(+)	-	Enterococcus mundtii	+	-	+	+	+	-	+	+			
-	+	+	+	+	+	+	+	Enterococcus raffinosus	-	-	+	+	+	-	+	+			
-	+	+	+	+	-	-	+	Enterococcus avium	-	-	+	+	+	-	d	+			
d	-	+	+	d	+	+	-	Enterococcus casseliflavus	+	+	+	+	+	-	+	+	α		
+	-	+	+	-	+	+	-	Enterococcus gallinarum	-	+	+	+	+	-	+	+			
+	-	-	-	-	d	-	-	Enterococcus durans	-	-	-	+	+	-	+	+	β 70%		
+	-	-	-	-	(+)	d	-	Enterococcus hirae	-	-	(+)	+	+	-	d	+	β 0%		
+	-	-	-	-	-	-	d	E. faecalis asaccharolytic var.	-	-	-	+	+	+	+	+			
-	+	-	+	+	(+)	+	-	Enterococcus malodoratus	-	-	+	+	+	-	d	+			
-	+	-	+	+	-	-	-	Enterococcus pseudoavium	-	-	+	+	+	-	d	+			
-	-	-	d	d	d	+	d	Enterococcus cecorum	-	-	+	+	+	n	-	-			
-	-	(+)	+	(+)	d	+	(-)	Enterococcus columbae	-	-	n	+	+	n	-	-			
+	-	-	-	-	-	+	-	Enterococcus dispar	-	-	+	+	+	-	-	+			
-	(-)	-	+	+	+	+	+	Enterococcus saccharolyticus	-	-	+	+	+	n	-	-			
+	-	-	+	+	(-)	-	+	Enterococcus solitarius	-	-	+	n	-	n	+	+			
-	-	-	-	-	d	+	+	Enterococcus sulfureus	+	-	+	+	+	-	-	+			

Objaśnienia: + = reakcja dodatnia

- = reakcja ujemna

d = reakcja zmienna

(+) = reakcja przeważnie dodatnia

(-) = reakcja przeważnie ujemna

n = nieznana reakcja

PIG = wytwarzanie żółtego pigmentu

RIB = riboza

SSD = grupa serologiczna D

MOT = ruch

LAC = laktosa

PYR = arylamidaza pyrrolidonylowa

SUC = sacharoza

TEL = tellurit

HEM = hemoliza

E. durans, *E. hirae*, *E. faecalis asaccharolytic var.* przynależą do grupy *Enterococcus Group III*

(FACKLAM, R. R., and COLLINS, M. D. 1989:

Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. J. Clin. Microbiol. 27, 731–734).Szczepy, które nie są jednoznacznie zidentyfikowane jako ww. wymienione, należy identyfikować jako przedstawicieli *Enterococcus Group III*.

UŻYTE SYMbole



Numer Katalogowy

Urządzenie
Diagnostyczne in Vitro

Producent



Patrz: Instrukcja Użycia



Numer Partii



Temperatury Graniczne



Termin Ważności

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbalachema.com

Data rewizji: 27. 5. 2019