

Système d'identification des *Streptococcaceae* et germes apparentés

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

API 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques, entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

PRINCIPE

La galerie API 20 Strep comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.

Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

PRESENTATION (Coffret de 25 tests)

- 25 galeries API 20 Strep
- 25 boîtes d'incubation
- 25 ampoules d'API GP Medium
- 25 fiches de résultats
- 1 notice

COMPOSITION

Galerie

La composition de la galerie API 20 Strep est reportée dans le tableau de lecture de cette notice.

Milieu

API GP	L-cystine	0,5 g
Medium	Tryptone (origine bovine/porcine)	20 g
2 ml	Chlorure de sodium	5 g
	Sulfite de sodium	0,5 g
	Rouge de phénol	0,17 g
	Eau déminéralisée	qsp 1000 ml
	pH : 7,4 - 7,6	

Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs / Instrumentation

- API® Suspension Medium, 2 ml (Réf. 70 700)
- Réactifs :
 - NIN (Réf. 70 491)
 - VP 1 + VP 2 (Réf. 70 422)
 - ZYM A (Réf. 70 494)
 - ZYM B (Réf. 70 493)
- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- McFarland Standard (Réf. 70 900) point 4 ou DENSIMAT (Réf. 99 234)
- Catalogue Analytique API 20 Strep (Réf. 20 690) ou logiciel d'identification **apiweb™** (Réf. 40 011) (consulter bioMérieux)
- Gélose Columbia au sang (Réf. 43 041)
- Bouillon Schaedler (éventuellement)

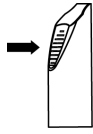
Matériel

- Ecouvillons
- Pipettes ou PSlpettes
- Portoir pour ampoules
- Protège-ampoule
- Jarre anaérobie
- Equipement général de laboratoire de bactériologie

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* et contrôle microbiologique.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer; ne pas inhaler).
- Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée par un personnel compétent et averti. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de l'emballage et des composants.
- Ne pas utiliser de galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, sachet déshydratant ouvert, ...
- Il est recommandé de réaliser un contrôle qualité avant d'utiliser chaque nouvelle ampoule de réactif ZYM B.

- Ouvrir les ampoules délicatement comme suit :
 - Placer l'ampoule dans le protège-ampoule.
 - Tenir l'ensemble verticalement dans une main (bouchon blanc vers le haut).
 - Bien enfoncer le bouchon.
 - Exercer une pression horizontale avec le pouce sur la partie striée du bouchon de façon à casser l'extrémité de l'ampoule.
 - Retirer l'ampoule du protège-ampoule et conserver le protège-ampoule pour une utilisation ultérieure.
 - Enlever délicatement le bouchon.
- Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique ou autre, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier de l'antibiogramme.



CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries et milieux se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

API 20 Strep ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre.

Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Sélection des colonies

Après isolement et vérification de l'appartenance de la souche à identifier à la famille des *Streptococcaceae* (réaction de Gram, catalase) :

- Noter le type d'hémolyse sur la fiche de résultats (21° test).
- Prélever une colonie bien isolée (Note 1) et la mettre en suspension dans 0,3 ml d'eau stérile. Bien homogénéiser.
- Inonder une boîte de gélose Columbia au sang de mouton (Note 2) avec cette suspension (ou écouillonner stérilement toute la surface de la gélose).
- Incuber la boîte 24 heures (\pm 2 heures) à 36°C \pm 2°C en anaérobiose.

NOTE 1 : Les Streptocoques β -hémolytiques et les Entérocoques donnent des colonies de taille suffisante après 24 heures d'incubation. Pour les autres Streptocoques, il est préférable de prélever des colonies de 48 heures. Pour les souches de culture difficile (très petites colonies à 48 heures) il est recommandé d'opérer de la manière suivante :

- Cultiver la colonie dans 1 ml de bouillon de Schaedler à 36°C \pm 2°C pendant 5 heures.
- Inonder une boîte de gélose Columbia au sang de mouton avec la totalité de cette culture. Eliminer l'excédent.
- Incuber la boîte 18 à 24 heures à 36°C \pm 2°C en anaérobiose.

NOTE 2 : Pour obtenir une pousse suffisante, il est préférable de préparer 2 géloses quand la souche est susceptible d'être un Pneumocoque.

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API Suspension Medium (2 ml) comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" ou utiliser un tube contenant 2 ml d'eau distillée sans additif.
- A l'aide d'un écouillon, prélever toute la culture préalablement préparée.
- Réaliser une suspension très dense : **opacité supérieure à 4 de McFarland**. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

Inoculation de la galerie

- Dans la première moitié de la galerie (tests VP à ADH) répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles (pour cela, incliner la boîte d'incubation vers l'avant et placer la pointe de la pipette ou de la PSipette sur le côté de la cupule) :
 - pour les tests VP à LAP : environ 100 μ l dans chaque cupule.
 - pour le test ADH : remplir uniquement le tube.
- Dans la deuxième moitié de la galerie (tests RIB à GLYG) :
 - ouvrir une ampoule d'API GP Medium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" et y transférer le reste de la suspension, soit 0,5 ml au minimum. Bien homogénéiser.
 - répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.
- Remplir les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de l'huile de paraffine en formant un ménisque convexe.
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36°C \pm 2°C en aérobiose pendant 4H00 - 4H30 pour une première lecture et 24 heures (\pm 2 heures) si nécessaire pour une deuxième lecture.

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture de la galerie

Après 4 heures d'incubation :

- Ajouter les réactifs :
 - test VP : 1 goutte de VP 1 et VP 2.
 - test HIP : 2 gouttes de NIN.
 - tests PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP : 1 goutte de ZYM A et ZYM B (*).

(* **Il est recommandé de contrôler** chaque ampoule de réactif ZYM B avant la 1^{ère} utilisation.

Pour cela, il est recommandé d'utiliser la **souche ATCC® 700400** mentionnée au paragraphe Contrôle Qualité afin d'exclure tout réactif défectueux.

- Attendre 10 minutes, puis lire toutes les réactions en se référant au Tableau de Lecture. Si nécessaire, exposer la galerie à une lampe forte (1000 W) 10 secondes pour décolorer le réactif en excès dans les tubes PYRA à LAP.

Une réincubation est nécessaire dans les cas suivants :
 - faible discrimination ;
 - profil inacceptable ou profil douteux ;
 - si, pour le profil obtenu, la note suivante est indiquée :

**IDENTIFICATION NON VALIDE
 AVANT 24 H D'INCUBATION**

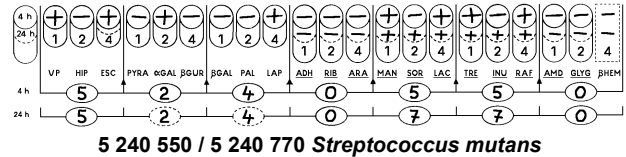
Alors, relire après 24 heures les réactions ESC, ADH et RIB à GLYG **sans relire les réactions enzymatiques** (HIP, PYRA, αGAL, βGUR, βGAL, PAL, LAP) et VP. Noter toutes les réactions sur la fiche de résultats.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du **profil numérique**.

- Détermination du profil numérique :
 Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique.

- Identification :
 Elle est réalisée à partir de la base de données (V7.0)
 * à l'aide du Catalogue Analytique :
 - Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.
 * à l'aide du logiciel d'identification **apiweb™** :
 - Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.



NOTE : La réaction hémolytique constitue le 21° test ; la β-hémolyse est considérée comme positive et sa valeur numérique est 4. Toute autre réaction hémolytique est considérée comme négative et sa valeur numérique est 0. Toutefois, ces caractères ont une valeur indicative pour l'identification de certaines espèces.

CONTROLE DE QUALITE

Les galeries, milieux et réactifs font l'objet de contrôles de qualité systématiques à différentes étapes de leur fabrication. Le **Contrôle de Qualité Minimum** peut être utilisé pour vérifier que les conditions de stockage et de transport n'ont pas d'impact sur les performances de la galerie API 20 Strep. Ce contrôle peut être réalisé en suivant les instructions et critères attendus ci-dessus en lien avec le référentiel CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Le Contrôle peut être fait en utilisant la souche **Streptococcus equi spp zoepidemicus ATCC® 700400** pour évaluer les performances du test ARA. Des études réalisées par bioMérieux ont montré que sur la galerie API 20 Strep, le test ARA est le test le plus sensible. Lors du contrôle, l'intégrité de la galerie peut être vérifiée en utilisant la souche **Streptococcus equi spp zoepidemicus ATCC 700400**.

Dans le cas où un **contrôle de Qualité Complet** exigé pour cette galerie, les deux souches suivantes devront être testées pour vérifier les réactions positives et négatives de la plupart des tests de la galerie API 20 Strep.

1. *Streptococcus equi spp zoepidemicus* ATCC 700400
2. *Streptococcus uberis* ATCC 700407

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	αGAL	βGUR	βGAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

- * Ce résultat peut varier en fonction du milieu de culture utilisé.
- Inoculum ajusté entre 4,5 et 5,5 McF avec DENSIMAT.
- Profils obtenus après : - 4 heures d'incubation pour les tests VP à LAP
 - 24 heures d'incubation pour les tests ADH à GLYG.
- Souches cultivées sur gélose Columbia au sang de mouton.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST

- Le système API 20 Strep est destiné à l'identification des espèces présentes dans la base de données (voir Tableau d'Identification en fin de notice), et à elles seules. Il ne peut être utilisé pour identifier d'autres microorganismes ou exclure leur présence.
- Certaines souches de *Streptococcus porcinus* peuvent être identifiées à *Streptococcus agalactiae*.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

RESULTATS ATTENDUS

Se référer au Tableau d'Identification en fin de cette notice pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

PERFORMANCES

- Après 4 heures d'incubation :
2336 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :
 - 87,9% des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
 - 5,7% des souches n'ont pas été identifiées.
 - 6,4% des souches ont été mal identifiées.

- Après 24 heures d'incubation :
3782 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :
 - 93,4% des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
 - 3,2% des souches n'ont pas été identifiées.
 - 3,4% des souches ont été mal identifiées.

ELIMINATION DES DECHETS

Éliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS			
				NEGATIF		POSITIF	
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 min (3) Incolore Rose-Rouge			
HIP	acide hippurique	0,4	hydrolyse (acide HIPpurique)	NIN / jusqu'à 10 min Incolore/Bleu pâle Gris-bleuté Bleu foncé/Violet			
ESC	esculine citrate de fer	1,16 0,152	hydrolyse β-glucosidase (ESCuline)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Incolore Jaune pâle	Incolore Jaune pâle Gris clair	Noir Gris	Noir
PYRA	acide pyroglutamique- β-naphtylamide	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) (1) au besoin décoloré par éclaircissement intense Incolore ou Orange très pâle Orange			
αGAL	6-bromo-2-naphtyl-αD- galactopyranoside	0,0376	α-GALactosidase	Incolore		Violet	
βGUR	acide naphthol-ASBI- glucuronique	0,0537	β-GIUcuRonidase	Incolore		Bleu	
βGAL	2-naphtyl-βD- galactopyranoside	0,0306	β-GALactosidase	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
PAL	2-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
LAP	L-leucine-β-naphtylamide	0,0256	Leucine AminoPeptidase	Incolore		Orange	
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune		Rouge	
RIB ARA MAN SOR LAC TRE INU RAF AMD	D-ribose L-arabinose D-mannitol D-sorbitol D-lactose (origine bovine) D-tréhalose inuline D-raffinose amidon (2)	1,4 1,4 1,36 1,36 1,4 1,32 5,12 3,12 2,56	acidification (RIBose) acidification (ARAbinose) acidification (MANnitol) acidification (SORbitol) acidification (LACtose) acidification (TREhalose) acidification (INUline) acidification (RAFFinose) acidification (AMiDon)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
				Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
				Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
				Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
				Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
				Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
				Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
				Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
GLYG	glycogène	1,28	acidification (GLYcoGène)	Rouge ou Orange		Jaune franc	

(1) Lors d'une deuxième lecture après 24 heures d'incubation, on peut remarquer un dépôt dans les tubes où ont été ajoutés les réactifs ZYM A et ZYM B. Ce phénomène est normal et ne doit pas être pris en considération.

(2) L'acidification de l'amidon est fréquemment moins forte que celle des autres sucres.

(3) Une coloration rose pâle obtenue après 10 minutes doit être considérée négative.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

METHODOLOGIE p. I
TABLEAU D'IDENTIFICATION p. II

BIBLIOGRAPHIE p. III
TABLE DES SYMBOLES p. IV

BIOMERIEUX, le logo bleu, API et **apiweb** sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.

CLSI est une marque appartenant à Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

ATCC est une marque appartenant à American Type Culture Collection.

Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Imprimé en France



Identification system for *Streptococcaceae* and related organisms

SUMMARY AND EXPLANATION

API 20 Strep is a standardized system combining 20 biochemical tests that offer widespread capabilities. It enables group or species identification of most streptococci and enterococci, and those most common related organisms. The complete list of those organisms that it is possible to identify with this system is given in the Identification Table at the end of this package insert.

PRINCIPLE

The API 20 Strep strip consists of 20 microtubes containing dehydrated substrates for the demonstration of enzymatic activity or the fermentation of sugars.

The enzymatic tests are inoculated with a dense suspension of organisms, made from a pure culture, which is used to reconstitute the enzymatic substrates. During incubation, metabolism produces color changes that are either spontaneous or revealed by the addition of reagents.

The fermentation tests are inoculated with an enriched medium which rehydrates the sugar substrates. Fermentation of carbohydrates is detected by a shift in the pH indicator.

The reactions are read according to the Reading Table and the identification is obtained by referring to the Analytical Profile Index or using the identification software.

CONTENT OF THE KIT (Kit for 25 tests)

- 25 API 20 Strep strips
- 25 incubation boxes
- 25 ampules of API GP Medium
- 25 result sheets
- 1 package insert

COMPOSITION

Strip

The composition of the API 20 Strep strip is given in the Reading Table of this package insert.

Medium

API GP Medium 2 ml	L-cystine	0.5 g
	Tryptone (bovine/porcine origin)	20 g
	Sodium chloride	5 g
	Sodium sulfite	0.5 g
	Phenol red	0.17 g
	Demineralized water	to make 1000 ml
pH : 7.4 - 7.6		

The quantities indicated may be adjusted depending on the titer of the raw materials used.

REAGENTS AND MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Reagents / Instrumentation

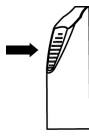
- API® Suspension Medium, 2 ml (Ref. 70 700)
- Reagents : NIN (Ref. 70 491)
 - VP 1 + VP 2 (Ref. 70 422)
 - ZYM A (Ref. 70 494)
 - ZYM B (Ref. 70 493)
- Mineral oil (Ref. 70 100)
- McFarland Standard (Ref. 70 900) point 4 on the scale or DENSIMAT (Ref. 99 234)
- API 20 Strep Analytical Profile Index (Ref. 20 690)
 - or **apiweb™** identification software (Ref. 40 011) (consult bioMérieux)
- Columbia blood agar plates (Ref. 43 041)
- Schaedler broth (optional)

Material

- Swabs
- Pipettes or PSipettes
- Ampule rack
- Ampule protector
- Anaerobic jar
- General microbiology laboratory equipment

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use and microbiological control.**
- **For professional use only.**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- All specimens, microbial cultures and inoculated products should be considered infectious and handled appropriately. Aseptic technique and usual precautions for handling the bacterial group studied should be observed throughout this procedure. Refer to "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Current revision*". For additional handling precautions, refer to "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Latest edition", or to the regulations currently in use in each country.
- Do not use reagents past the expiry date.
- Before use, check that the packaging and components are intact.
- Do not use strips which have been damaged: cupules deformed, desiccant sachet open, etc.
- It is recommended to perform a quality control test when a new ampule of ZYM B reagent is opened.

- Open ampules carefully as follows :
 - Place the ampule in the ampule protector.
 - Hold the protected ampule in one hand in a vertical position (white plastic cap uppermost).
- 
- Press the cap down as far as possible.
 - Position the thumb tip on the striated part of the cap and press forward to snap off the top of the ampule.
 - Take the ampule out of the ampule protector and put the protector aside for subsequent use.
 - Carefully remove the cap.
- The performance data presented were obtained using the procedure indicated in this package insert. Any change or modification in the procedure may affect the results.
 - Interpretation of the test results should be made taking into consideration the patient history, the source of the specimen, colonial and microscopic morphology of the strain and, if necessary, the results of any other tests performed, particularly the antimicrobial susceptibility patterns.

STORAGE CONDITIONS

The strips and media should be stored at 2-8°C until the expiry date indicated on the packaging.

SPECIMENS (COLLECTION AND PREPARATION)

API 20 Strep is not for use directly with clinical or other specimens.

The microorganisms to be identified must first be isolated on a suitable culture medium according to standard microbiological techniques.

INSTRUCTIONS FOR USE

Selection of colonies

Once the microorganism to be identified has been isolated and verified to be a member of the family *Streptococcaceae* (Gram, catalase test) :

- Note the type of hemolysis on the result sheet (21st test).
- Pick a well-isolated colony (Note 1) and suspend it in 0.3 ml of sterile water. Homogenize well.
- Flood a Columbia sheep blood agar plate (Note 2) with this suspension (or aseptically swab the entire surface of the agar).
- Incubate the plate for 24 hours (\pm 2 hours) at 36°C \pm 2°C in anaerobic conditions.

NOTE 1 : β -hemolytic streptococci and enterococci produce sufficiently large colonies after 24 hours of incubation. For other streptococci, it is preferable to select a colony after 48 hours of incubation. For fastidious strains (producing minute colonies after 48 hours), the following procedure is recommended :

- Culture the colony in 1 ml of Schaedler broth at 36°C \pm 2°C for 5 hours.
- Flood a Columbia sheep blood agar plate with the entire culture. Remove any excess liquid.
- Incubate the plate for 18-24 hours at 36°C \pm 2°C in anaerobic conditions.

NOTE 2 : In the case of suspected pneumococci, it is advisable to prepare 2 agar plates in order to obtain sufficient growth.

Preparation of the strip

- Prepare an incubation box (tray and lid) and distribute about 5 ml of distilled water or demineralized water [or any water without additives or chemicals which may release gases (e.g. Cl₂, CO₂, etc.)] into the honey-combed wells of the tray to create a humid atmosphere.
- Record the strain reference on the elongated flap of the tray. (Do not record the reference on the lid as it may be misplaced during the procedure).
- Remove the strip from its individual packaging.
- Place the strip in the incubation box.

Preparation of the inoculum

- Open an ampule of API Suspension Medium (2 ml) as indicated in the paragraph "Warnings and Precautions" or use any tube containing 2 ml of distilled water without additives.
- Using a swab, harvest all the culture from the previously prepared subculture plate.
- Make a dense suspension with a **turbidity greater than 4 McFarland**. This suspension must be used immediately after preparation.

Inoculation of the strip

- In the first half of the strip (tests VP to ADH), distribute this suspension, avoiding the formation of bubbles (tilt the strip slightly forwards and place the tip of the pipette or PSIpette against the side of the cupule) :
 - For the tests VP to LAP : distribute approximately 100 μ l into each cupule.
 - For the ADH test : fill the tube only.
- In the second half of the strip (tests RIB to GLYG) :
 - Open an ampule of API GP Medium as indicated in the paragraph "Warnings and Precautions" and transfer the rest of the suspension into it (appr. 0.5 ml). Mix well.
 - Distribute this new suspension into the tubes only.
- Fill the cupule of the underlined tests (ADH to GLYG) with mineral oil to form a convex meniscus.
- Place the lid on the tray.
- Incubate at 36°C \pm 2°C in aerobic conditions for 4 - 4 ½ hours to obtain a first reading and for 24 hours (\pm 2 hours) to obtain a second reading if required.

READING AND INTERPRETATION

Reading the strip

After 4 hours of incubation :

- Add the reagents :
 - VP test : 1 drop of each of VP 1 and VP 2.
 - HIP test : 2 drops of NIN.
 - PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL and LAP tests : 1 drop of each of ZYM A and ZYM B (*).
- (*) **It is recommended to control** each ampule of ZYM B before using for the first time.
To do this, it is recommended to use **the strain ATCC® 700400** indicated in the Quality Control paragraph in order to eliminate any defective reagents.
- Wait 10 minutes, then read the reactions by referring to the Reading Table. If necessary, expose the strip to a strong light (10 seconds with a 1000 W lamp) to decolorize any excess reagents in tubes PYRA to LAP.

Reincubation is necessary in the following cases :

- low discrimination ;
- unacceptable or doubtful profile ;
- or if the following comment is given for the profile :

IDENTIFICATION NOT VALID

BEFORE 24 HOURS OF INCUBATION

In this case, after 24 hours, reread the reactions ESC, ADH, and RIB to GLYG. **Do not reread the enzymatic reactions** (HIP, PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP) and VP. Record all the reactions on the result sheet.

Interpretation

Identification is obtained with the **numerical profile**.

- Determination of the numerical profile :
On the result sheet, the tests are separated into groups of 3 and a value of 1, 2 or 4 is indicated for each. By adding together the values corresponding to positive reactions within each group, a 7-digit profile number is obtained.

• Identification :

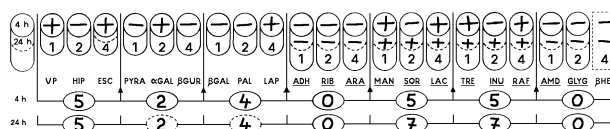
This is performed using the database (V 7.0)

* with the Analytical Profile Index :

- Look up the numerical profile in the list of profiles.

* with the **apiweb™** identification software :

- Enter the 7-digit numerical profile manually via the keyboard.



5 240 550 / 5 240 770 *Streptococcus mutans*

NOTE : The hemolytic reaction constitutes the 21st test ; β -hemolysis is considered as positive with a numerical value of 4. All other hemolytic reactions are considered as negative with a numerical value of 0. Nevertheless, this test may be of discriminant value for the identification of certain species.

QUALITY CONTROL

The media, strips and reagents are systematically quality controlled at various stages of their manufacture.

Streamlined quality control may be used to confirm acceptable performance of the API 20 Strep system after shipping-storage. This methodology may be performed by following the instructions above for testing and meeting the criteria stated in CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Testing may be conducted using ***Streptococcus equi* spp *zooepidemicus* ATCC® 700400** to evaluate the performance of the ARA test. Testing performed by bioMérieux has shown that the ARA test is the most labile on the API 20 Strep strip. When testing the strip, *Streptococcus equi* spp *zooepidemicus* ATCC 700400 can be used to detect degradation.

For those users who are required to perform **comprehensive quality control** testing with the strip, the following two strains should be tested to demonstrate positive and negative reactivity for most of the API 20 Strep tests.

1. *Streptococcus equi* spp *zooepidemicus* ATCC 700400
2. *Streptococcus uberis* ATCC 700407

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

* This result may vary depending on the culture medium used.

- Inoculum adjusted to between 4.5 and 5.5 McF using DENSIMAT.
- Profiles obtained after : - 4 hours of incubation for tests VP to LAP
- 24 hours of incubation for tests ADH to GLYG.
- Strains cultured on Columbia sheep blood agar.

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

- The API 20 Strep system is intended uniquely for the identification of those species included in the database (see Identification Table at the end of this package insert). It cannot be used to identify any other microorganisms or to exclude their presence.
- Certain strains of *Streptococcus porcinus* may be identified as *Streptococcus agalactiae*.
- Only pure cultures of a single organism should be used.

RANGE OF EXPECTED RESULTS

Consult the Identification Table at the end of this package insert for the range of expected results for the various biochemical reactions.

PERFORMANCE

- After 4 hours of incubation:
2336 collection strains and strains of various origins belonging to species included in the database were tested :
 - 87.9 % of the strains were correctly identified (with or without supplementary tests).
 - 5.7 % of the strains were not identified.
 - 6.4 % of the strains were misidentified.

- After 24 hours of incubation:
3782 collection strains and strains of various origins belonging to species included in the database were tested :
 - 93.4 % of the strains were correctly identified (with or without supplementary tests).
 - 3.2 % of the strains were not identified.
 - 3.4 % of the strains were misidentified.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

READING TABLE

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTS							
				NEGATIVE		POSITIVE					
VP	sodium pyruvate	1.9	acetoin production (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / wait 10 min (3)							
				Colorless		Pink-Red					
HIP	hippuric acid	0.4	hydrolysis (HIPpuric acid)	NIN / wait 10 min							
				Colorless/Pale blue Bluish-grey		Dark blue/Violet					
ESC	esculin ferric citrate	1.16 0.152	β -glucosidase hydrolysis (ESCulin)	4 hrs.	24 hrs.	4 hrs.	24 hrs.				
				Colorless Pale yellow	Colorless Pale yellow Light grey	Black Grey	Black				
PYRA	pyroglutamic acid- β -naphthylamide	0.0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA to LAP) (1) if necessary, decolorize with intense light							
				Colorless or very pale orange		Orange					
α GAL	6-bromo-2-naphthyl- α D-galactopyranoside	0.0376	α -GALactosidase	Colorless		Violet					
β GUR	naphthol ASBI-glucuronic acid	0.0537	β -GIUCuRonidase	Colorless		Blue					
β GAL	2-naphthyl- β D-galactopyranoside	0.0306	β -GALactosidase	Colorless or Very pale violet		Violet					
PAL	2-naphthyl phosphate	0.0244	ALkaline Phosphatase	Colorless or Very pale violet		Violet					
LAP	L-leucine- β -naphthylamide	0.0256	Leucine AminoPeptidase	Colorless		Orange					
ADH	L-arginine	1.9	Arginine DiHydrolase	Yellow		Red					
<u>RIB</u>	D-ribose	1.4	acidification (RIBose)	4 hrs.	24 hrs.	4 hrs.	24 hrs.				
				Red	Orange/ Red	Orange/ Yellow	Yellow				
				<u>ARA</u>	L-arabinose	1.4	acidification (ARABinose)	Red	Orange/ Red	Orange/ Yellow	Yellow
								<u>MAN</u>	D-mannitol	1.36	acidification (MANnitol)
				<u>SOR</u>	D-sorbitol	1.36	acidification (SORbitol)				
								<u>LAC</u>	D-lactose (bovine origin)	1.4	acidification (LACTose)
				<u>TRE</u>	D-trehalose	1.32	acidification (TREhalose)				
								<u>INU</u>	inulin	5.12	acidification (INULin)
				<u>RAF</u>	D-raffinose	3.12	acidification (RAFFinose)				
								<u>AMD</u>	starch (2)	2.56	acidification (AmiDon)
<u>GLYG</u>	glycogen	1.28	acidification (GLYcoGen)	Red or Orange		Bright yellow					

(1) During a second reading after 24 hours of incubation, a deposit may be noticed in the tubes where the ZYM A and ZYM B reagents have been added. This phenomenon is normal and should not be taken into consideration.

(2) The acidification of starch is frequently weaker than that of other sugars.

(3) A pale pink color obtained after 10 minutes should be considered negative.

- The quantities indicated may be adjusted depending on the titer of the raw materials used.
- Certain cupules contain products of animal origin, notably peptones.

PROCEDURE
IDENTIFICATION TABLE

p. I
p. II

LITERATURE REFERENCES
INDEX OF SYMBOLS

p. III
p. IV

BIOMÉRIEUX, the blue logo, API and **apiweb** are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux SA or one of its subsidiaries.

CLSI is a trademark belonging to Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

ATCC is a trademark belonging to American Type Culture Collection.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Printed in France



System zur Identifizierung von *Streptococcaceae* und verwandten Mikroorganismen

EINFÜHRUNG UND TESTERKLÄRUNG

API 20 Strep ist ein standardisiertes System zur Identifizierung der meisten Streptokokken und Enterokokken sowie der häufigsten verwandten Mikroorganismen. Der Streifen besteht aus 20 biochemischen Reaktionen, die aufgrund ihrer hohen Aussagekraft für die Keim-differenzierung ausgewählt wurden. Die komplette Liste der mit dem System identifizierbaren Mikroorganismen finden Sie in der Prozenttabelle am Ende der Arbeitsanleitung.

PRINZIP

Der API 20 Strep Streifen besteht aus 20 Mikroröhrchen, die dehydrierte Substrate zum Nachweis der Enzymaktivität oder Zuckerfermentation enthalten.

Die enzymatischen Tests werden mit einer aus einer Reinkultur hergestellten, dichten Suspension beimpft, welche die Enzymsubstrate rekonstituiert. Die während der Inkubation entstehenden Stoffwechselprodukte bewirken Farbumschläge, die entweder spontan oder nach Zugabe von Reagenzien eintreten.

Die Fermentationsreaktionen werden mit einem angereicherten Medium beimpft, das die Kohlenhydrate rehydriert. Die Fermentation der Kohlenhydrate bewirkt eine Säuerung, die durch spontanen Farbumschlag des Indikators nachgewiesen wird.

Die Ablesung der Reaktionen erfolgt anhand der Ablesetabelle, und die Identifizierung erfolgt mit Hilfe des Analytischen Profil Index oder der Identifizierungssoftware.

PACKUNGSGRÖSSE (für 25 Tests)

- 25 API 20 Strep Streifen
- 25 Inkubationswannen
- 25 Ampullen API GP Medium
- 25 Ergebnisblätter
- 1 Arbeitsanleitung

ZUSAMMENSETZUNG

Streifen

Die Zusammensetzung des API 20 Strep Streifens finden Sie in der Ablesetabelle dieser Arbeitsanleitung.

Medium

API GP	L-Cystin	0,5 g
Medium	Trypton (Rind/Schwein)	20 g
2 ml	Natriumchlorid	5 g
	Natriumsulfit	0,5 g
	Phenolrot	0,17 g
	Demineralisiertes Wasser	ad 1000 ml
	pH: 7,4-7,6	

Die angegebenen Mengen können je nach Konzentration der verwendeten Ausgangsmaterialien angeglichen werden.

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Reagenzien / Geräte

- API® Suspensionsmedium, 2 ml (Best.Nr. 70 700)
- Reagenzien: NIN (Best.Nr. 70 491)
 - VP 1 + VP 2 (Best.Nr. 70 422)
 - ZYM A (Best.Nr. 70 494)
 - ZYM B (Best.Nr. 70 493)
- Paraffinöl (Best.Nr. 70 100)
- McFarland Standard 4 (Best.Nr. 70 900) oder DENSIMAT (Best.Nr. 99 234)
- API 20 Strep Analytischer Profil Index (Best.Nr. 20 690) oder **apiweb™** Identifizierungssoftware (Best.Nr. 40 011) (bei bioMérieux anfragen)
- Columbia Blutagar (Best.Nr. 43 041)
- Schaedler Bouillon (wahlweise)

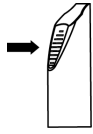
Materialien

- Wattetupfer
- Pipetten oder PSIpipetten
- Ampullenständer
- Schutzhülle für Ampullen
- Anaerobiertopf
- Allgemeine mikrobiologische Laborausstattung

VORSICHTSMASSNAHMEN

- **Nur für die in vitro Diagnostik und die mikrobiologische Kontrolle.**
- **Nur für die Verwendung durch Fachkundige bestimmt.**
- Dieser Kit enthält Bestandteile tierischen Ursprungs. Da durch die Kontrolle der Herkunft und/oder des Gesundheitszustandes der Tiere nicht völlig gewährleistet kann, dass diese Produkte keine übertragbaren pathogenen Agenzien enthalten, ist es empfehlenswert, diese als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln (nicht einnehmen, nicht einatmen).
- Alle Proben, Mikroorganismen und beimpften Produkte müssen als potenziell infektiös betrachtet und unter Beachtung geeigneter Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß behandelt werden. Während der gesamten Testdurchführung müssen aseptische Arbeitsbedingungen und entsprechende Vorsichtsmaßnahmen für die zu untersuchende Keimgruppe eingehalten werden, siehe „CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – aktuelle Revision*“. Weitere diesbezügliche Informationen finden Sie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH – Letzte Ausgabe“ oder in den jeweils gültigen Richtlinien.
- Die Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Vergewissern Sie sich vor Gebrauch, dass die Verpackung und die verschiedenen Bestandteile nicht beschädigt sind.
- Streifen mit äußeren Anzeichen einer Beschädigung (deformierte Vertiefungen, geöffnete Trockenmittelbeutel etc.) nicht verwenden.
- Es ist empfehlenswert, beim Öffnen von jeder neuen Ampulle ZYM B Reagenz eine Qualitätskontrolle durchzuführen.

- Öffnen Sie die Ampullen wie folgt vorsichtig:
 - Stecken Sie die Ampulle in die Schutzhülle der Ampulle.
 - Halten Sie die Ampulle in der Schutzhülle senkrecht (weiße Verschlusskappe nach oben).
 - Pressen Sie die Verschlusskappe so weit wie möglich nach unten.
 - Drücken Sie mit dem Daumen gegen den gestrichelten Bereich der Verschlusskappe, bis die Ampullenspitze abbricht.
 - Nehmen Sie die Ampulle aus der Schutzhülle und bewahren Sie die Schutzhülle für einen späteren Gebrauch auf.
 - Entfernen Sie vorsichtig die Verschlusskappe.
- Die angegebene Performance wurde gemäß dem Verfahren der vorliegenden Arbeitsanleitung ermittelt. Jede Abweichung von diesem Verfahren kann die Ergebnisse beeinflussen.
- Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen der klinische Hintergrund oder andere Zusammenhänge, die Probenherkunft, Kolonie- und mikroskopische Morphologie des Stammes sowie gegebenenfalls die Ergebnisse anderer Tests, insbesondere das Antibiogramm, berücksichtigt werden.



LAGERUNGSBEDINGUNGEN

Die Streifen und Medien müssen bei 2-8°C gelagert werden und sind bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

PROBEN (ENTNAHME UND VORBEREITUNG)

API 20 Strep darf nicht zur direkten Testung von klinischen oder anderen Untersuchungsmaterialien verwendet werden.

Die zu identifizierenden Mikroorganismen müssen gemäß den üblichen mikrobiologischen Verfahren auf einem geeigneten Kulturmedium isoliert werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Auswahl der Kolonien

Nach der Isolierung des zu identifizierenden Stammes und Überprüfung, ob dieser zur Familie der *Streptococcaceae* gehört (Gramfärbung, Katalase-Reaktion) gehen Sie wie folgt vor:

- Notieren Sie die Art der Hämolyse auf dem Ergebnisblatt (21. Test).
- Nehmen Sie eine Einzelkolonie ab (Anmerkung 1) und suspendieren Sie diese in 0,3 ml sterilem Aqua dest. Die Suspension gut homogenisieren.
- Überfluten Sie eine Columbia-Agarplatte mit Schafblut (Anmerkung 2) mit dieser Suspension (oder beimpfen Sie die ganze Oberfläche des Agars aseptisch mit einem Wattetupfer).
- Inkubieren Sie die Platte für 24 h (± 2 h) bei $36^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ unter anaeroben Bedingungen.

ANMERKUNG 1: β -hämolisierende Streptokokken und Enterokokken bilden nach 24-stündiger Inkubation ausreichend große Kolonien. Bei anderen Streptokokken ist es empfehlenswert, 48 h zu inkubieren. Bei anspruchsvollen Keimen (sehr kleine Kolonien nach 48 h) empfiehlt es sich, folgendermaßen vorzugehen:

- Inkubieren Sie eine Kolonie in 1 ml Schaedler-Bouillon für 5 h bei $36^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.
- Überfluten Sie eine Columbia-Agarplatte mit Schafblut mit der ganzen Kultur. Den Überstand werfen.
- Inkubieren Sie die Platte für 18-24 h bei $36^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ unter anaeroben Bedingungen.

ANMERKUNG 2: Bei Verdacht auf Pneumokokken empfiehlt es sich, 2 Platten vorzubereiten, um ausreichendes Wachstum zu erhalten.

Vorbereitung des Streifens

- Stellen Sie eine Inkubationswanne mit Deckel bereit und geben Sie zur Herstellung einer feuchten Kammer ca. 5 ml destilliertes oder demineralisiertes Wasser [oder anderes Wasser ohne Zusätze bzw. Derivate, die Gase freisetzen können (z.B. Cl_2 , CO_2 ...)] in die Wanne.
- Notieren Sie die Referenznummer des Stammes auf dem dafür vorgesehenen seitlichen Abschnitt der Inkubationswanne. (Die Referenznummer nicht auf dem Deckel notieren, da dieser während des Arbeitsablaufes verwechselt werden oder abhanden kommen kann).
- Nehmen Sie den Streifen aus der Verpackung.
- Legen Sie den Streifen in die Wanne.

Vorbereitung des Inokulums

- Öffnen Sie eine Ampulle API Suspensionsmedium (2 ml), wie im Abschnitt "Vorsichtsmaßnahmen" dieser Arbeitsanleitung beschrieben, oder verwenden Sie ein anderes Röhrchen mit 2 ml Aqua dest. ohne Zusätze.
- Nehmen Sie die zuvor hergestellte Kultur mit einem Wattetupfer ganz ab.
- Stellen Sie eine dichte Suspension her: Die **Trübung muss höher als die des McFarland-Standards 4** sein. Diese Suspension muss sofort verwendet werden.

Inokulation des Streifens

- Erste Hälfte des Streifens: Die Tests VP bis ADH folgendermaßen mit dieser Suspension beimpfen (um Blasenbildung zu vermeiden, halten Sie die Inkubationswanne leicht schräg und legen Sie die Pipette oder PSipette am Rand des Bechers auf):
 - Für die Tests VP bis LAP ca. 100 μl in jeden Becher pipettieren.
 - Für den ADH-Test nur das Röhrchen füllen.
- Zweite Hälfte des Streifens (Tests RIB bis GLYG):
 - Öffnen Sie eine Ampulle API GP Medium, wie im Abschnitt „Vorsichtsmaßnahmen“ beschrieben, und überführen Sie den Rest der Suspension (ca. 0,5 ml) in diese Ampulle. Gut homogenisieren.
 - Mit dieser neuen Suspension nur die Röhrchen füllen.
- Überschichten Sie die Becher der unterstrichenen Reaktionen (ADH bis GLYG) hoch mit Paraffinöl.
- Schließen Sie die Inkubationswanne mit dem Deckel.
- Die erste Ablesung erfolgt nach Inkubation für 4 - 4 ½ h bei $36^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ unter aeroben Bedingungen, die zweite Ablesung erfolgt, falls erforderlich, nach 24 h (± 2 h).

ABLESUNG UND INTERPRETATION

Ablesung des Streifens

Nach 4-stündiger Inkubation:

- Die Reagenzien zugeben:
 - VP: je 1 Tropfen VP 1 und VP 2.
 - HIP: 2 Tropfen NIN.
 - PYRA, αGAL , βGUR , βGAL , PAL und LAP: je 1 Tropfen ZYM A und ZYM B (*).
- (* **Es ist empfehlenswert**, jede Ampulle mit ZYM B Reagenz vor dem ersten Gebrauch zu **kontrollieren**. Es wird empfohlen, hierfür den im Abschnitt Qualitätskontrolle angegebenen **ATCC® Stamm 700400** zu verwenden, um jegliche unbrauchbaren Reagenzien auszuschließen.
- Warten Sie 10 min und lesen Sie dann alle Reaktionen mit Hilfe der Ablesetabelle ab. Falls erforderlich, legen Sie den Streifen 10 s lang unter eine starke Lampe (1000 W), um das überschüssige Reagenz in den Röhrchen PYRA bis LAP zu entfärben.

Eine erneute Inkubation ist erforderlich:

- schwacher Selektivität;
- bei einem nicht akzeptierbaren oder zweifelhaften Profil;
- wenn der folgende Hinweis erscheint:

IDENTIFIZIERUNG VOR 24 H
INKUBATION NICHT MÖGLICH

Lesen Sie in diesem Fall die Reaktionen ESC, ADH und RIB bis GLYG nach 24 h erneut ab. **Die enzymatischen Reaktionen** (HIP, PYRA, αGAL, βGUR, βGAL, PAL, LAP) und VP **nicht erneut ablesen**. Alle Reaktionen auf dem Ergebnisblatt notieren.

Interpretation

Die Identifizierung erhält man anhand des **numerischen Profils**.

- Erstellung des numerischen Profils:
Die biochemischen Reaktionen auf dem Ergebnisblatt sind in 3-er Gruppen eingeteilt. Jede positive Reaktion erhält den Wert 1, 2 oder 4, je nach Position des Tests innerhalb der Gruppe (1., 2. oder 3. Test). Durch Addieren der Zahlenwerte jeder Gruppe (negative Reaktion = 0) erhält man das 7-stellige numerische Profil.

• Identifizierung:

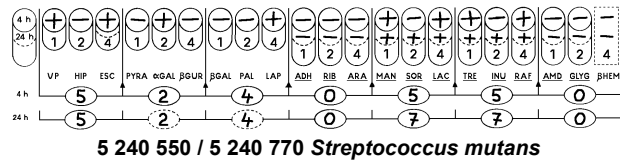
Die Identifizierung erfolgt anhand der Datenbasis (V 7.0)

* mit dem Analytischen Profil Index:

- Schlagen Sie das numerische Profil im Analytischen Profil Index nach.

* mit der **apiweb™** Identifizierungssoftware:

- Geben Sie das 7-stellige numerische Profil manuell über die Tastatur ein.



ANMERKUNG: Der 21. Test bezieht sich auf die Art der Hämolyse. β-Hämolyse wird als positive Reaktion bewertet und erhält den Zahlenwert 4. Alle anderen Arten der Hämolyse werden als negativ bewertet und erhalten den Wert 0. Die Hämolysereaktion ist für die Identifizierung einiger Spezies von maßgeblicher Bedeutung.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Medien, Streifen und Reagenzien unterliegen in den verschiedenen Stadien der Produktion systematisch durchgeführten Qualitätskontrollen.

Es kann eine rationalisierte Qualitätskontrolle durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass die Leistungsdaten des API 20 Strep Systems durch die Lagerung und den Transport nicht beeinflusst wurden. Diese Kontrolle kann durchgeführt werden, indem die oben genannten Testanweisungen befolgt und die in der Norm CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems genannten Kriterien eingehalten werden.

Um die Leistung der ARA Reaktion zu überprüfen, kann die Testung mit dem **Streptococcus equi spp zooepidemicus ATCC® 700400** Stamm durchgeführt werden. Die von bioMérieux durchgeführten Tests haben gezeigt, dass der ARA Test der empfindlichste Test auf dem API 20 Strep Streifens ist. Durch die Testung von *Streptococcus equi spp zooepidemicus* ATCC 700400 kann eine Qualitätsminderung des Streifens nachgewiesen werden.

Für eine **umfassende Qualitätskontrolle** des Teststreifens müssen die folgenden zwei Stämme getestet werden, um die positiven und negativen Reaktionen für die Mehrzahl der Tests des API 20 Strep Streifens zu kontrollieren.

1. *Streptococcus equi* spp *zooepidemicus* ATCC 700400 2. *Streptococcus uberis* ATCC 700407

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	αGAL	βGUR	βGAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

- * Dieses Ergebnis kann je nach dem verwendeten Kulturmedium variieren.
- Das Inokulum wurde mit DENSIMAT auf Werte zwischen 4,5 und 5,5 McF eingestellt.
- Profile nach:
 - 4-stündiger Inkubation für die Tests VP bis LAP,
 - 24-stündiger Inkubation für die Tests ADH bis GLYG.
- Anzucht der Stämme auf Columbia-Agar mit Schafblut.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Qualitätskontrolle in Übereinstimmung mit den jeweils gültigen Vorschriften durchzuführen.

LIMITIERUNGEN

- Das API 20 Strep System ist nur zur Identifizierung der in der Datenbasis enthaltenen Spezies bestimmt (siehe Prozenttabelle am Ende dieser Arbeitsanleitung). Andere Mikroorganismen können weder identifiziert noch ausgeschlossen werden.
- Einige *Streptococcus porcinus* können als *Streptococcus agalactiae* identifiziert werden.
- Es dürfen nur Reinkulturen verwendet werden.

ERWARTETE ERGEBNISSE

Die erwarteten Ergebnisse der verschiedenen biochemischen Reaktionen entnehmen Sie der Prozenttabelle am Ende dieser Arbeitsanleitung.

PERFORMANCE

- Nach 4-stündiger Inkubation:
2.336 Stämme unterschiedlicher Herkunft und Stämme aus Stammsammlungen, die zu den Spezies der Datenbasis gehören, wurden getestet:
 - 87,9% der Stämme wurden korrekt identifiziert (mit oder ohne Zusatztests).
 - 5,7% der Stämme wurden nicht identifiziert.
 - 6,4% der Stämme wurden falsch identifiziert.

- Nach 24-stündiger Inkubation:
3.782 Stämme unterschiedlicher Herkunft und Stämme aus Stammsammlungen, die zu den Spezies der Datenbasis gehören, wurden getestet:
 - 93,4% der Stämme wurden korrekt identifiziert (mit oder ohne Zusatztests).
 - 3,2% der Stämme wurden nicht identifiziert.
 - 3,4% der Stämme wurden falsch identifiziert.

BESEITIGUNG DER ABFÄLLE

Entsorgen Sie alle gebrauchten und nicht gebrauchten Reagenzien sowie kontaminierte Einwegmaterialien gemäß den für infektiöse oder potenziell infektiöse Materialien geltenden Bestimmungen.

Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die entstandenen Abfälle und Abwässer gemäß der jeweiligen Risikogruppe zu behandeln und deren Entsorgung in Übereinstimmung mit den gültigen gesetzlichen Bestimmungen sicherzustellen.

ABLESETABELLE

TESTS	AKTIVE BESTANDTEILE	MENGE (mg/Vert.)	REAKTIONEN/ENZYME	ERGEBNISSE			
				NEGATIV		POSITIV	
VP	Natriumpyruvat	1,9	Acetoinbildung (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / bis 10 min (3)			
				farblos		rosa-rot	
HIP	Hippursäure	0,4	Hydrolyse (HIPpursäure)	NIN / bis 10 min			
				farblos/blassblau bläulich-grau		dunkelblau/violett	
ESC	Aesculin Eisencitrat	1,16 0,152	β-Glucosidase-Hydrolyse (AESCulin)	4 h	24 h	4 h	24 h
				farblos blassgelb	farblos blassgelb hellgrau	schwarz grau	schwarz
PYRA	Pyroglutaminsäure-β-naphthylamid	0,0256	PYRrolidonylarylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA bis LAP) (1) bei Bedarf mit einer starken Lichtquelle entfärben			
				farblos oder sehr hell-orange		orange	
αGAL	6-Bromo-2-naphthyl-αD-galactopyranosid	0,0376	α-GALactosidase	farblos		violett	
βGUR	Naphthol-ASBI-glucuronsäure	0,0537	β-GIUcuRonidase	farblos		blau	
βGAL	2-Naphthyl-βD-galactopyranosid	0,0306	β-GALactosidase	farblos oder sehr hell-violett		violett	
PAL	2-Naphthylphosphat	0,0244	ALKalische Phosphatase	farblos oder sehr hell-violett		violett	
LAP	L-Leucin-β-naphthylamid	0,0256	LeucinAminoPeptidase	farblos		orange	
ADH	L-Arginin	1,9	ArgininDiHydrolase	gelb		rot	
				4 h	24 h	4 h	24 h
RIB	D-Ribose	1,4	Säurebildung (RIBose)	rot	orange/ rot	orange/ gelb	gelb
ARA	L-Arabinose	1,4	Säurebildung (ARAbinose)	rot	orange/ rot	orange/ gelb	gelb
MAN	D-Mannitol	1,36	Säurebildung (MANnitol)	rot	orange/ rot	orange/ gelb	gelb
SOR	D-Sorbitol	1,36	Säurebildung (SORbitol)	rot	orange/ rot	orange/ gelb	gelb
LAC	D-Lactose (bovin)	1,4	Säurebildung (LACTose)	rot	orange/ rot	orange/ gelb	gelb
TRE	D-Trehalose	1,32	Säurebildung (TREhalose)	rot	orange/ rot	orange/ gelb	gelb
INU	Inulin	5,12	Säurebildung (INUlin)	rot	orange/ rot	orange/ gelb	gelb
RAF	D-Raffinose	3,12	Säurebildung (RAFFinose)	rot	orange/ rot	orange/ gelb	gelb
AMD	Stärke (2)	2,56	Säurebildung (AMiDon)	rot	orange/ rot	orange/ gelb	gelb
GLYG	Glycogen	1,28	Säurebildung (GLYcoGen)	rot oder orange		leuchtend gelb	

(1) Bei einer zweiten Ablesung nach 24 h Inkubation kann sich in den Röhrcchen, denen die Reagenzien ZYM A und ZYM B zugegeben wurden, ein Niederschlag bilden. Dies ist normal und für die Identifizierung ohne Bedeutung.

(2) Die Säurebildung aus Stärke ist häufig weniger stark als bei den anderen Kohlenhydraten.

(3) Eine hellrosa Färbung nach 10 min ist negativ zu bewerten.

- Die angegebenen Mengen können je nach Konzentration der verwendeten Ausgangsmaterialien angeglichen werden.
- Einige Näpfchen enthalten Bestandteile tierischen Ursprungs, vor allem Peptone.

METHODIK
PROZENTTABELLE

S. I
S. II

LITERATUR
SYMBOLS

S. III
S. IV

BIOMERIEUX, das blaue Logo, API und **apiweb** sind verwendete, angemeldete und/oder eingetragene Marken von bioMérieux SA oder einer ihrer Niederlassungen.

CLSI ist eine Marke von Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

ATCC ist eine Marke von American Type Culture Collection.

Alle anderen Namen oder Marken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Besitzer.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Gedruckt in Frankreich



Sistema de identificación de los *Streptococcaceae* y otros gérmenes emparentados

INTRODUCCIÓN Y OBJETO DEL ENSAYO

La galería API 20 Strep es un sistema estandarizado que asocia 20 ensayos bioquímicos de un gran poder discriminante. Permite realizar un diagnóstico de grupo o por especie de la mayoría de los estreptococos, enterococos, y para los gérmenes emparentados más corrientes. La lista completa de las bacterias que es posible identificar con este sistema se puede ver en la Tabla de Identificación al final de esta ficha técnica.

PRINCIPIO

La galería API 20 Strep se compone de 20 microtubos que contienen los substratos deshidratados para la detección de actividades enzimáticas o de fermentación de azúcares.

Los ensayos enzimáticos se inoculan con una suspensión densa realizada a partir de un cultivo puro que reconstituye los medios. Las reacciones que se producen durante el período de incubación se traducen en variaciones de coloración, espontáneas o reveladas mediante la adición de reactivos.

Los ensayos de fermentación se inoculan con un medio enriquecido (que contiene un indicador de pH), que rehidrata los azúcares. La fermentación de los hidratos de carbono trae consigo una acidificación que se traduce en la modificación espontánea del indicador de color.

La lectura de estas reacciones se lleva a cabo utilizando la Tabla de Lectura, y la identificación se obtiene con la ayuda del Catálogo Analítico o del software de identificación.

PRESENTACIÓN (Envase de 25 ensayos)

- 25 galerías API 20 Strep
- 25 cámaras de incubación
- 25 ampollas de API GP Medium
- 25 hojas de resultados
- 1 ficha técnica

COMPOSICIÓN

Galería

La composición de la galería API 20 Strep puede verse en la Tabla de Identificación de la presente ficha técnica.

Medio

API GP Medium 2 ml	L-cistina	0,5 g
	Triptona (origen bovino/porcino)	20 g
	Cloruro sódico	5 g
	Sulfito sódico	0,5 g
	Rojo de fenol	0,17 g
	Agua desmineralizada	c.s.p. 1.000 ml
pH: 7,4 - 7,6		

Las cantidades indicadas pueden ajustarse en función de los títulos de las materias primas.

REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Reactivos/Instrumentación

- API® Suspension Medium 2 ml (ref. 70 700)
- Reactivos : NIN (ref. 70 491)
VP 1 + VP 2 (ref. 70 422)
ZYM A (Ref. 70 494)
ZYM B (ref. 70 493)
- Aceite de parafina (ref. 70 100)
- McFarland Standard (ref. 70 900) punto 4 o DENSIMAT (ref. 99 234)
- Catálogo Analítico API 20 STREP (ref. 20 690) o Software de Identificación **apiweb™** (Ref. 40 011) (consultar con bioMérieux)
- Agar Columbia con sangre (ref. 43 041)
- Caldo Schaedler (eventualmente)

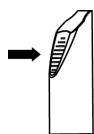
Material

- Escobillones
- Pipetas o PSipettes
- Gradillas para ampollas
- Protege-ampolla
- Jarra de anaerobiosis
- Equipo general de laboratorio de bacteriología

PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Para diagnóstico *in vitro* y control microbiológico.**
- **Exclusivamente para uso profesional.**
- Este envase contiene compuestos de origen animal. La falta de control sobre el origen y/o el estado sanitario de los animales, no nos permite garantizar de forma absoluta que estos productos no contengan algún agente patógeno transmisible, por lo que se recomienda manipularlos mediante las precauciones de utilización relativas a los productos potencialmente infecciosos: (no ingerir, ni inhalar).
- Todas las muestras, cultivos bacterianos y productos inoculados deben ser considerados como potencialmente infecciosos y ser manipulados de manera apropiada por personal competente. Durante toda la manipulación, deben respetarse las normas de asepsia y tomar las precauciones habituales de manipulación para el grupo de bacterias estudiadas; consultar: "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Revisión en vigor*". Para información complementaria sobre las precauciones de manipulación, consultar: "*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, CDC/NIH – Última edición", o la reglamentación vigente en el país de utilización.
- No emplear los reactivos después de su fecha de caducidad.
- Antes de su utilización, verificar la integridad del envase y de sus componentes.
- No utilizar galerías que hayan sufrido una alteración física: cúpula deformada, bolsa del deshidratante abierta, ...
- Se recomienda realizar un control de calidad antes de usar cada nueva ampolla de reactivo ZYM B.

- Abrir las ampollas con cuidado del modo siguiente:
 - Introducir la ampolla en el protege-ampolla.
 - Sujetar verticalmente el conjunto en una mano (tapón blanco hacia arriba).
 - Presionar a fondo el tapón.
 - Ejercer una presión horizontal con el pulgar en la parte estriada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.
 - Retirar la ampolla del protege-ampolla y conservarlo para un próximo uso.
 - Retirar el tapón con cuidado.



- Las prestaciones indicadas han sido obtenidas mediante la metodología expresada en la presente ficha técnica. Toda desviación de dicha metodología puede alterar los resultados.
- La interpretación de los resultados del ensayo debe ser realizada teniendo en cuenta un contexto clínico o de otro tipo, el origen de las muestras, los aspectos macro y microscópicos de la cepa y, eventualmente, los resultados de otros ensayos, particularmente del antibiograma.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Las galerías y los medios se conservan a 2-8°C hasta la fecha límite de utilización indicada en el envase.

MUESTRAS (RECOGIDA Y PREPARACIÓN)

La galería API 20 Strep no debe ser utilizada directamente a partir de muestras de origen clínico o de otro tipo.

En una primera fase, los microorganismos a identificar deben aislarse sobre un medio de cultivo adaptado según las técnicas usuales en bacteriología.

MODO DE EMPLEO

Selección de las colonias

Después de aislar y verificar la pertenencia de la cepa a identificar al género *Streptococcaceae* (reacción de Gram, catalasa):

- Anotar el tipo de hemólisis en la hoja de resultados (ensayo nº 21).
- Tomar una colonia bien aislada (Nota 1) y disolverla en suspensión en 0,3 ml de agua estéril. Homogeneizar bien.
- Inundar una placa de agar Columbia con sangre de cordero (Nota 2) con esta suspensión (o distribuirlo mediante un escobillón estéril sobre toda la superficie del agar).
- Incubar la placa 24 horas (\pm 2 horas) a $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en anaerobiosis.

NOTA 1: Los Estreptococos β -hemolíticos y los Enterococos generan colonias de tamaño suficiente después de 24 horas de incubación. Para los otros Estreptococos, es preferible utilizar colonias a las 48 horas de incubación. Para las cepas de cultivo difícil (colonias extremadamente pequeñas a las 48 horas), se recomienda operar como sigue:

- Cultivar la colonia en 1 ml de caldo de Schaedler a $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 5 horas.
- Inundar una placa de agar Columbia con sangre de cordero con la totalidad de este cultivo inicial en caldo. Eliminar el excedente.
- Incubar la placa durante 18-24 horas a $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en anaerobiosis.

NOTA 2: Para obtener una cantidad suficiente, es preferible preparar 2 placas cuando la cepa sea susceptible de ser un Pneumococo.

Preparación de la galería

- Reunir fondo y tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 ml de agua destilada o desmineralizada [o cualquier agua sin aditivos ni derivados susceptibles a liberar gases (Ej. Cl_2 , CO_2 ...)] en los alveólos para crear una atmósfera húmeda.
- Inscribir la referencia de las cepas en la lengüeta lateral de la cámara. (No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede extraviarse durante la manipulación).
- Sacar una galería de su envase individual.
- Colocar la galería en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo

- Abrir una ampolla de API Suspension Medium (2 ml) como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización" o bien utilizar un tubo que contenga 2 ml de agua destilada sin aditivo.
- Con la ayuda de un escobillón, retirar todo el cultivo previamente preparado.
- Realizar una suspensión muy densa: **turbidez superior a 4 de McFarland**. Esta suspensión debe ser utilizada de inmediato después de su preparación.

Inoculación de la galería

- En la primera mitad de la galería (desde el ensayo VP al ADH), repartir la suspensión anterior, evitando la formación de burbujas (para ello inclinar la cámara de incubación hacia adelante y colocar la punta de la pipeta o PSipette sobre el lateral de la cúpula):
 - para los ensayos desde VP al LAP: agregar aproximadamente 100 μl en cada cúpula.
 - para el ensayo ADH: llenar únicamente el tubo.
- En la segunda mitad de la galería (desde el ensayo RIB al GLYG):
 - abrir una ampolla de API GP Medium como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización" y transferir allí el resto de la suspensión, es decir, aproximadamente 0,5 ml como mínimo. Homogeneizar bien.
 - repartir esta nueva suspensión sólo en los tubos.
- Llenar las cúpulas de las pruebas subrayadas desde la ADH a la GLYG con aceite de parafina, provocando un menisco convexo.
- Volver a cerrar la cámara de incubación.
- Incubar a $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en aerobiosis durante 4 - 4,5 horas para una primera lectura y 24 horas (\pm 2 horas) si fuera necesario para una segunda lectura.

LECTURA E INTERPRETACIÓN

Lectura de la galería

Después de 4 horas de incubación:

- Añadir los reactivos:
 - ensayo VP: 1 gota de VP 1 y VP 2
 - ensayo HIP: 2 gotas de NIN
 - ensayos PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP: una gota de ZYM A ZYM B (*).
- (* **Se recomienda controlar** cada ampolla de reactivo ZYM B antes de la 1^{era} utilización. Para ello, se recomienda utilizar **la cepa ATCC® 700400** mencionada en el párrafo Control de Calidad con el fin de excluir todo reactivo defectuoso.
- Esperar 10 minutos para leer todas las reacciones, remitiéndose la Tabla de Identificación. Si es necesario, exponer la galería a una lámpara de luz intensa (1000 W) 10 segundos para eliminar el exceso de reactivo de los tubos desde el PYRA al LAP.

Es necesaria una reincubación en los siguientes casos :
 - débil discriminación;
 - perfil inaceptable o perfil dudoso;
 - si, para el perfil obtenido, está indicada la siguiente nota:

**IDENTIFICACIÓN NO VÁLIDA
 ANTES DE 24 HORAS DE INCUBACIÓN**

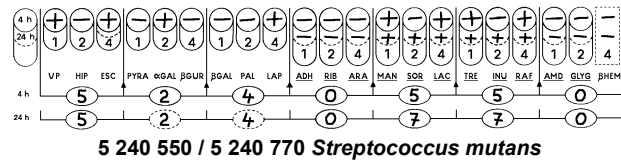
En este caso, volver a leer después de 24 horas las reacciones ESC, ADH y desde el RIB al GLYG **sin releer las reacciones enzimáticas** (HIP, PYRA, αGAL, βGUR, βGAL, PAL, LAP) y VP. Anotar todas las reacciones en la hoja de resultados.

Interpretación

La identificación se obtiene a partir del **perfil numérico**:

- **Determinación del perfil numérico:**
 En la hoja de resultados, los ensayos se separan en grupos de 3 y se asigna para cada uno un valor 1, 2 ó 4. Sumando en el interior de cada grupo los números que corresponden a reacciones positivas, se obtienen 7 cifras que constituyen el perfil numérico.

- **Identificación:**
 Se realiza a partir de la base de datos (V7.0)
 * Con la ayuda del Catálogo Analítico:
 - Localizar el perfil numérico en la lista de los perfiles.
 * Por medio del software de identificación **apiweb™** :
 - Introducir manualmente por teclado el perfil numérico de 7 cifras.



NOTA: La reacción hemolítica constituye el ensayo nº 21°; la β-hemólisis se considera como positiva y su valor numérico es 4. Cualquier otra reacción hemolítica se considera como negativa y su valor numérico es 0. Sin embargo estos caracteres tienen un valor indicativo para la identificación de ciertas especies.

CONTROL DE CALIDAD

Los medios, galerías y reactivos son objeto de controles de calidad sistemáticos durante las diferentes etapas de su fabricación.

Se puede realizar un **control de calidad** para confirmar las prestaciones de API 20 Strep tras la recepción y almacenaje. Para ello se pueden seguir las instrucciones y criterios descritos en CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

La prueba se puede realizar usando **Streptococcus equi spp zooepidemicus ATCC® 700400** para evaluar las prestaciones de la prueba ARA. Pruebas realizadas por bioMérieux mostraron que la prueba ARA es la más lábil en API 20 Strep. Al probar la tarjeta se puede usar, **Streptococcus equi spp zooepidemicus ATCC 700400** para detectar la degradación.

Los usuarios que han de realizar un **control de calidad** con la galería pueden usar las dos cepas siguientes para demostrar la reactividad positiva o negativa de la mayoría de las pruebas de API 20 Strep.

1. **Streptococcus equi spp zooepidemicus ATCC 700400**
2. **Streptococcus uberis ATCC 700407**

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	αGAL	βGUR	βGAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

- * Este resultado puede variar en función del medio de cultivo utilizado.
- Inóculo ajustado entre 4,5 y 5,5 McF con DENSIMAT.
- Perfiles obtenidos tras: - 4 horas de incubación para los ensayos desde el VP al LAP
 - 24 horas de incubación para los ensayos desde el ADH al GLYG.
- Cepas cultivadas sobre agar Columbia con sangre de cordero.

El usuario es responsable de cerciorarse de que el control de calidad haya sido realizado conforme a la legislación local vigente.

LÍMITES DEL ENSAYO

- El sistema API 20 Strep está destinado a la identificación de las especies presentes en la base de datos (ver Tabla de Identificación al final de la presente ficha técnica), y sólo a ellas. No puede utilizarse para identificar otros microorganismos ni para excluir su presencia.
- Algunas cepas de *Streptococcus porcinus* pueden ser identificadas como *Streptococcus agalactiae*.
- Sólo se deben utilizar cultivos puros que contengan un sólo tipo de microorganismo.

RESULTADOS ESPERADOS

Consultar la Tabla de Identificación que se incluye al final de esta ficha técnica para aclarar los resultados esperados en las diferentes reacciones bioquímicas.

PRESTACIONES

- Después de 4 horas de incubación:
Han sido ensayadas 2.336 cepas de diversos orígenes, así como cepas de colección pertenecientes a especies de la base de datos:
 - 87,9% de las cepas han sido identificadas correctamente (con o sin ensayos complementarios).
 - 5,7% de las cepas no han sido identificadas.
 - 6,4% de las cepas se han identificado incorrectamente.

- Después de 24 horas de incubación:
Han sido ensayadas 3.782 cepas de diversos orígenes, así como cepas de colección pertenecientes a especies de la base de datos:
 - 93,4% de las cepas han sido identificadas correctamente (con o sin ensayos complementarios).
 - 3,2% de las cepas no han sido identificadas.
 - 3,4% de las cepas se han identificado incorrectamente.

ELIMINACION DE LOS RESIDUOS

Eliminar los reactivos utilizados o no utilizados, así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relacionados con los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los desechos y efluentes que produce, según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación según las reglamentaciones aplicables.

TABLA DE IDENTIFICACIÓN

TESTS	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp.)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS			
				NEGATIVO		POSITIVO	
VP	piruvato sódico	1,9	producción de acetona (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / hasta 10 min. (3)			
				Incoloro		Rosa-Rojizo	
HIP	ácido hipúrico	0,4	hidrólisis (ácido HIPúrico)	NIN / hasta 10 min.			
				Incoloro/Azul pálido Gris azulado		Azul oscuro /Violeta	
ESC	esculina citrato de hierro	1,16 0,152	hidrólisis β-glucosidasa (ESculina)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Incoloro Amarillo pálido	Incoloro Amarillo pálido Gris claro	Negro Gris	Negro
PYRA	ácido piroglutámico-β-naftilamida	0,0256	PIRolidonil Arilamidasa	ZYM A + ZYM B / 10 min. (del PYRA al LAP) (1) decolorar en caso necesario mediante luz intensa			
				Incoloro o Naranja muy pálido		Naranja	
αGAL	6-bromo-2-naftil-αD-galactopiranosida	0,0376	α-GALactosidasa	Incoloro		Violeta	
βGUR	ácido naftol-ASBI-glucurónico	0,0537	β-GIUcuRonidasa	Incoloro		Azul	
βGAL	2-naftil-βD-galactopiranosida	0,0306	β-GALactosidasa	Incoloro o Violeta muy pálido		Violeta	
PAL	2-naftil fosfato	0,0244	Fosfatasa ALcalina	Incoloro o Violeta muy pálido		Violeta	
LAP	L-leucina-β-naftilamida	0,0256	Leucina AminoPeptidasa	Incoloro		Naranja	
ADH	L-arginina	1,9	Arginina DiHidrolasa	Amarillo		Rojo	
<u>RIB</u> <u>ARA</u> <u>MAN</u> <u>SOR</u> <u>LAC</u> <u>TRE</u> <u>INU</u> <u>RAF</u> <u>AMD</u>	D-ribosa	1,4	acidificación (RIBosa)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Rojo	Naranja/ Rojo	Naranja/ Amarillo	Amarillo
	L-arabinosa	1,4	acidificación (ARAbinosa)	Rojo	Naranja/ Rojo	Naranja/ Amarillo	Amarillo
	D-manitol	1,36	acidificación (MANitol)	Rojo	Naranja/ Rojo	Naranja/ Amarillo	Amarillo
	D-sorbitol	1,36	acidificación (SORbitol)	Rojo	Naranja/ Rojo	Naranja/ Amarillo	Amarillo
	D-lactosa (origen bovino)	1,4	acidificación (LACTosa)	Rojo	Naranja/ Rojo	Naranja/ Amarillo	Amarillo
	D-trehalosa	1,32	acidificación (TREhalosa)	Rojo	Naranja/ Rojo	Naranja/ Amarillo	Amarillo
	inulina	5,12	acidificación (INULina)	Rojo	Naranja/ Rojo	Naranja/ Amarillo	Amarillo
	D-rafinosa	3,12	acidificación (RAFinosa)	Rojo	Naranja/ Rojo	Naranja/ Amarillo	Amarillo
almidón (2)	2,56	acidificación (AIMiDón)	Rojo	Naranja/ Rojo	Naranja/ Amarillo	Amarillo	
GLYG	glucógeno	1,28	acidificación (GLIcógeno)	Rojo o Naranja		Amarillo franco	

(1) Durante una segunda lectura después de 24 horas de incubación, se puede observar un depósito en los tubos a los cuales se han añadido reactivos ZYM A y ZYM B. Este fenómeno es normal y no debe ser tomado en consideración.

(2) La acidificación del almidón es con frecuencia menos intensa que la de otros azúcares.

(3) Una coloración rosa pálido obtenida después de 10 minutos debe ser considerada negativa.

- Las cantidades indicadas pueden ser ajustadas en función de los títulos de las materias primas.
- Ciertas cúpulas contienen componentes de origen animal, especialmente peptona bovina/porcina.

TECNICA p. I BIBLIOGRAFÍA p. III
TABLA DE IDENTIFICACIÓN p. II TABLA DE SÍMBOLOS p. IV

BIOMERIEUX, el logo azul, API y **apiweb** son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux SA o a cada una de sus filiales.

CLSI es una marca registrada perteneciente a Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

ATCC es una marca perteneciente a American Type Culture Collection.

Las otras marcas y nombre de productos mencionados en este documento son marcas comerciales de sus respectivos poseedores.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Étoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Impreso en Francia



Sistema di identificazione delle *Streptococcaceae* e dei germi correlati

INTRODUZIONE E OBIETTIVI DEL TEST

API 20 Strep è un sistema standardizzato composto da 20 test biochimici ad elevata discriminazione. Permette di identificare a livello di gruppo o di specie la maggior parte degli streptococchi e degli enterococchi e degli altri germi più comuni ad essi correlati. L'elenco completo dei batteri che si possono identificare con questo sistema, sono riportati alla fine della presente scheda tecnica.

PRINCIPIO

La galleria API 20 Strep è costituita da 20 microprovette contenenti dei substrati disidratati per la rivelazione delle attività enzimatiche o della fermentazione degli zuccheri.

Per i test enzimatici l'inoculo è costituito da una sospensione densa, ottenuta da una coltura pura, che consente la reidratazione del substrato enzimatico. Le reazioni prodotte durante il periodo di incubazione sono evidenziate da un viraggio cromatico spontaneo o successivo all'aggiunta di reattivi ausiliari.

Per i test fermentativi l'inoculo è costituito da un terreno arricchito (contenente un indicatore di pH) che consente la reidratazione degli zuccheri. La fermentazione dei carboidrati comporta un processo di acidificazione che si traduce con un viraggio cromatico spontaneo dell'indicatore.

La lettura delle reazioni si effettua utilizzando la Tabella di Lettura e l'identificazione si ottiene consultando l'Indice Analitico oppure utilizzando un software di identificazione.

CONTENUTO DELLA CONFEZIONE (25 test)

- 25 gallerie API 20 Strep
- 25 vaschette di incubazione
- 25 fiale di API GP Medium
- 25 schede per la registrazione dei risultati
- 1 scheda tecnica

COMPOSIZIONE

Gallerie

La composizione della galleria API 20 Strep è riportata nella Tabella di Lettura di questa scheda tecnica.

Terreno

API GP	L-cisteina	0,5 g
Medium	Tryptone (origine bovina/suina)	20 g
2 ml	Cloruro di sodio	5 g
	Solfito di sodio	0,5 g
	Rosso fenolo	0,17 g
	Acqua demineralizzata	qsp 1000 ml
	pH : 7,4 - 7,6	

Le quantità indicate possono essere aggiustate in funzione del titolo delle materie prime utilizzate.

REATTIVI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Reattivi / Strumenti

- API® Suspension Medium, 2 ml (Cod. 70 700)
- Reattivi : NIN (Cod. 70 491)
VP 1 + VP 2 (Cod. 70 422)
ZYM A (Cod. 70 494)
ZYM B (Cod. 70 493)
- Olio di paraffina (Cod. 70 100)
- McFarland Standard (Cod. 70 900) punto 4 o DENSIMAT (Cod. 99 234)
- Indice Analitico API 20 Strep (Cod. 20 690) o software di identificazione **apiweb™** (Cod. 40 011) (consultare bioMérieux)
- Piastre agar Columbia al sangue (Cod. 43 041)
- Brodo Schaedler (se necessario)

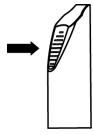
Materiale

- Tamponi
- Pipette o PSIPette
- Porta-fiale
- Proteggi-fiale
- Giara per anaerobiosi
- Materiale generico per laboratorio di batteriologia

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- **Per diagnostica *in vitro* e per controllo microbiologico.**
- **Unicamente per uso professionale.**
- Questa confezione contiene dei componenti di origine animale. Poiché i controlli sull'origine e/o sullo stato sanitario degli animali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare).
- I prelievi, le colture batteriche ed i prodotti seminati devono essere considerati come potenzialmente infettivi e devono essere manipolati in maniera appropriata da operatori competenti e preparati. Le tecniche di asepsi e le precauzioni d'uso per il gruppo batterico studiato devono essere rispettate durante tutta la manipolazione; fare riferimento a "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Revisione in vigore". Per ulteriori informazioni sulle precauzioni di manipolazione, consultare "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH - Ultima edizione", oppure fare riferimento alla normativa vigente nel Paese.
- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza.
- Prima dell'uso verificare l'integrità dell'imballaggio e dei componenti.
- Non utilizzare gallerie che abbiano subito una alterazione fisica: cupole deformate, sacchetto del disidratante aperto, ...
- Si raccomanda di eseguire un controllo di qualità prima di utilizzare una nuova fiala di reattivo ZYM B.

- Aprire le fiale delicatamente come indicato di seguito:
 - Inserire la fiala nel proteggi-fiala.
 - Impugnare la fiala in posizione verticale (cappuccio bianco rivolto verso l'alto).
 - Spingere bene in fondo il cappuccio.
 - Premere orizzontalmente con il pollice sulla parte striata del cappuccio fino a rompere l'estremità della fiala.
 - Estrarre la fiala dal proteggi-fiala e conservare il proteggi-fiala per una successiva utilizzazione.
 - Togliere delicatamente il cappuccio.
- Le performance riportate di seguito sono state ottenute seguendo il procedimento indicato in questa scheda tecnica. Qualsiasi deviazione dal procedimento indicato può alterare i risultati.
- L'interpretazione dei risultati del test deve tener conto del contesto clinico o di altra natura, dell'origine del campione, degli aspetti macro e microscopici del ceppo ed, eventualmente, dei risultati di altri esami, in particolare dell'antibiogramma.



CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

Le gallerie ed i terreni si conservano a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

CAMPIONI (PRELIEVO E PREPARAZIONE)

I campioni clinici o di altra natura non possono essere utilizzati direttamente con l'API 20 Strep.

I microrganismi da identificare devono essere inizialmente isolati su un terreno di coltura appropriato secondo le normali tecniche batteriologiche.

PROCEDIMENTO

Selezione delle colonie

Dopo l'isolamento del microrganismo che deve essere identificato e dopo aver verificato che questo appartenga alla famiglia delle *Streptococcaceae* (reazione di Gram, catalasi):

- Annotare il tipo di emolisi sulla scheda per la registrazione dei risultati (21° test).
- Prelevare una colonia ben isolata (Nota 1) e sospenderla in 0,3 ml di acqua sterile. Omogeneizzare bene.
- Inondare una piastra di agar Columbia al sangue di montone (Nota 2) con questa sospensione (o strofinare in condizioni di sterilità l'intera superficie dell'agar con un tampone).
- Incubare la piastra 24 ore (± 2 ore) a 36°C ± 2 °C in anaerobiosi.

NOTA 1 : Gli Streptococchi β -emolitici e gli Enterococchi danno origine a colonie di sufficienti dimensioni dopo 24 ore di incubazione. Per gli altri streptococchi è consigliabile prelevare colonie di 48 ore. Per i ceppi di difficile coltura (colonie di dimensioni molto ridotte dopo 48 ore) è consigliabile procedere nel modo seguente:

- Coltivare la colonia in 1 ml di brodo Schaedler per 5 ore a 36°C ± 2 °C.
- Inondare una piastra di agar Columbia al sangue di montone con l'intera coltura. Eliminare la parte eccedente.
- Incubare la piastra per 18-24 ore a 36°C ± 2 °C in anaerobiosi.

NOTA 2 : Allo scopo di ottenere una crescita sufficiente, è consigliabile preparare 2 piastre di agar Columbia quando si presume che il ceppo da esaminare sia uno Pneumococco.

Preparazione della galleria

- Riunire fondo e coperchio di una vaschetta di incubazione e distribuire circa 5 ml di acqua distillata o demineralizzata [o semplicemente dell'acqua senza additivi o derivati che potrebbero liberare gas (ad es. Cl₂, CO₂ ...)] nei pozzetti per creare un ambiente umido.
- Annotare il riferimento del ceppo sulla linguetta laterale della vaschetta. (Non annotare il riferimento sul coperchio, in quanto potrebbe essere spostato al momento della manipolazione).
- Estrarre la galleria dal suo involucro.
- Mettere la galleria nella vaschetta di incubazione.

Preparazione dell'inoculo

- Aprire una fiala di API Suspension Medium (2 ml) come indicato al paragrafo "Avvertenze e Precauzioni", o utilizzare una provetta contenente 2 ml di acqua distillata senza additivi.
- Servendosi di un tampone, prelevare l'intera coltura precedentemente preparata.
- Preparare una sospensione piuttosto densa con **opacità superiore al punto 4 di McFarland** e utilizzarla immediatamente.

Inoculo della galleria

- Nella prima metà della galleria (test da VP ad ADH): distribuire la sospensione preparata evitando la formazione di bolle (a tale scopo inclinare leggermente in avanti la vaschetta di incubazione ed appoggiare la punta della pipetta o della PSipetta sul lato interno della cupola):
 - per i test da VP a LAP : distribuire circa 100 μ l in ciascuna cupola.
 - per il test ADH : riempire unicamente la provetta.
- Nella seconda metà della galleria (test da RIB a GLYG):
 - aprire una fiala di API GP Medium come indicato al paragrafo "Avvertenze e Precauzioni" e trasferirvi il resto della sospensione, ossia al minimo 0,5 ml. Omogeneizzare bene.
 - distribuire questa nuova sospensione solo nelle provette.
- Riempire con olio di paraffina le cupole dei test sottolineati da ADH a GLYG fino a formare un menisco convesso.
- Chiudere la vaschetta di incubazione.
- Incubare a 36°C ± 2 °C in aerobiosi per 4 - 4,5 ore per una prima lettura ed eventualmente, se necessario, per 24 ore (± 2 ore) per una seconda lettura.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE

Letture della galleria

Dopo 4 ore di incubazione:

- aggiungere i reattivi :
 - test VP : 1 goccia di VP 1 e di VP 2.
 - test HIP : 2 gocce di NIN.
 - test PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP : 1 goccia di ZYM A e di ZYM B (*).
- (* **Si raccomanda di controllare** ogni fiala di reattivo ZYM B prima di utilizzarlo per la 1^a volta.
Per fare ciò, per escludere ogni reattivo difettoso, si raccomanda di utilizzare il **ceppo ATCC® 700400** indicato nel paragrafo Controllo di Qualità.
- Attendere 10 minuti, poi leggere tutte le reazioni riferendosi alla Tabella di Lettura. Se necessario, esporre la galleria ad una lampada potente (1000 W) per 10 secondi per decolorare il reattivo in eccesso nelle provette da PYRA a LAP.

E' necessario procedere ad una nuova incubazione:

- in caso di debole identificazione;
- profilo inaccettabile o dubbio;
- quando in corrispondenza del profilo ottenuto compare il seguente messaggio:

**IDENTIFICAZIONE NON VALIDA
PRIMA DI 24 ORE DI INCUBAZIONE**

A distanza di 24 ore eseguire nuovamente la lettura delle reazioni ESC, ADH e da RIB a GLYG **senza rileggere le reazioni enzimatiche** (HIP, PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP) e VP. Trascrivere tutte le reazioni sulla scheda dei risultati.

Interpretazione

L'identificazione si ottiene partendo dal **profilo numerico**.

- Determinazione del profilo numerico :
Sulla scheda dei risultati, i test sono separati in gruppi di tre e ad ognuno viene attribuito un valore pari a 1, 2 o 4. All'interno di ogni tripletta, vengono sommati fra di loro i valori corrispondenti alle sole reazioni positive, ottenendo così, un profilo numerico a 7 cifre.

Identificazione :

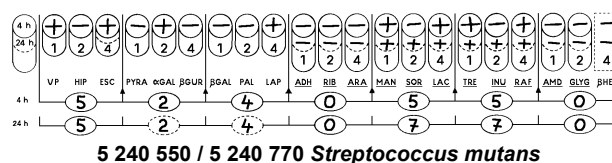
Si ottiene partendo dalla base dei dati (V7.0)

* Utilizzando l'Indice Analitico :

- Ricercare il profilo numerico nella lista dei profili.

* Mediante il software di identificazione **apiweb™** :

- Digitare sulla tastiera le 7 cifre del profilo numerico.



NOTA : La reazione emolitica costituisce il 21° test; la β -emolisi si considera positiva e ad essa viene attribuito il valore 4. Ogni altra reazione emolitica si considera negativa e ad essa viene attribuito il valore 0. Tuttavia, questo test può assumere un significato discriminante ai fini dell'identificazione di alcune specie.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le gallerie, i terreni, ed i reattivi sono sottoposti a controlli di qualità sistematici nelle diverse fasi del ciclo produttivo.

Il **Controllo di Qualità Minimo** può essere utilizzato per verificare che le condizioni di conservazione e di trasporto non hanno impatto sulle performance della galleria API 20 Strep. Questo controllo può essere eseguito seguendo le istruzioni ed i criteri riportati sopra, vincolati al referenziale CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Per valutare le performance del test ARA, il Controllo può essere fatto utilizzando il ceppo ***Streptococcus equi* spp *zooepidemicus* ATCC® 700400**. Studi eseguiti da bioMérieux hanno mostrato che sulla galleria API 20 Strep il test ARA è il test più sensibile. Quando viene eseguito il controllo, l'integrità della galleria può essere verificata utilizzando il ceppo *Streptococcus equi* spp *zooepidemicus* ATCC 700400.

Nel caso in cui per questa galleria si debba eseguire un **Controllo di Qualità Completo**, per verificare le reazioni positive e negative della maggior parte dei test della galleria API 20 Strep dovranno essere testati i due ceppi seguenti.

1. *Streptococcus equi* spp *zooepidemicus* ATCC 700400
2. *Streptococcus uberis* ATCC 700407

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

* Questo risultato può variare in funzione del terreno di coltura utilizzato.

- Inoculo aggiustato fra 4,5 e 5,5 McF con il DENSIMAT.
- Profili ottenuti dopo:
 - 4 ore di incubazione per i test da VP a LAP
 - 24 ore di incubazione per i test da ADH a GLYG.
- Ceppi coltivati sull'agar Columbia al sangue di montone.

E' responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il controllo di qualità corrisponda a quanto previsto dalla legislazione vigente.

LIMITI DEL METODO

- Il sistema API 20 Strep è destinato all'identificazione delle specie incluse nella base dei dati (vedere la Tabella di Identificazione alla fine della scheda tecnica) e solo di queste. Non può essere utilizzato per identificare altri microrganismi o per escluderne la presenza.
- Alcuni ceppi di *Streptococcus porcinus* possono essere identificati come *Streptococcus agalactiae*.
- Devono essere utilizzate solo colonie pure, contenenti cioè un solo tipo di microrganismo.

RISULTATI ATTESI

Per quanto i risultati attesi delle differenti reazioni biochimiche, fare riferimento alla Tabella di identificazione, riportata alla fine di questa scheda tecnica.

PERFORMANCE

- Dopo 4 ore di incubazione :
sono stati testati 2336 ceppi di origine diversa e ceppi di collezione appartenenti alle specie incluse nella base dei dati :
 - il 87,9 % dei ceppi è stato correttamente identificato (con o senza test complementari).
 - il 5,7 % dei ceppi non è stato identificato.
 - il 6,4 % dei ceppi non è stato correttamente identificato.

- Dopo 24 ore di incubazione :
sono stati testati 3782 ceppi di origine diversa e ceppi di collezione appartenenti alle specie incluse nella base dei dati:
 - il 93,4% dei ceppi è stato correttamente identificato (con o senza test complementari).
 - il 3,2% dei ceppi non è stato identificato.
 - il 3,4% dei ceppi non è stato correttamente identificato.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Smaltire i reattivi utilizzati o non utilizzati ed i materiali monouso contaminati seguendo le procedure relative ai prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.

E' responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti e gli effluenti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità ed assicurarne (o farne assicurare) il trattamento e lo smaltimento conformemente alla legislazione vigente.

TABELLA DI LETTURA

TEST	SUBSTRATI	Q.TA' (mg/cup.)	REAZIONI/ENZIMI	RESULTATI							
				NEGATIVO		POSITIVO					
VP	piruvato di sodio	1,9	produzione d'acetoina (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / Attendere 10 min (3)							
				Incolore		Rosa-Rosso					
HIP	acido ippurico	0,4	idrolisi (acido ippurico)	NIN / attendere 10 min							
				Incolore/Blu chiaro Grigio bluastrò		Blu scuro/Viola					
ESC	esculina citrato di ferro	1,16 0,152	idrolisi β -glucosidasi (ESculina)	4 ore	24 ore	4 ore	24 ore				
				Incolore Giallo pallido	Incolore Giallo pallido Grigio chiaro	Nero Grigio	Nero				
PYRA	ac. piroglutamico- β -naftilamide	0,0256	PiRrolidonil Arilamidasi	ZYM A + ZYM B / 10 min (da PYRA a LAP) (1) se necessario decolorare per esposizione intensa alla luce							
				Incolore o Arancione molto chiaro		Arancione					
α GAL	6-bromo-2-naftil- α D-galattopiranoside	0,0376	α -GALattosidasi	Incolore		Viola					
β GUR	acido naftol-ASBI-glucuronico	0,0537	β -GLUcuRonidasi	Incolore		Blu					
β GAL	2-naftil- β D-galattopiranoside	0,0306	β -GALattosidasi	Incolore o Viola molto chiaro		Viola					
PAL	2-naftil fosfato	0,0244	Fosfatasi ALcalina	Incolore o Viola molto pallido		Viola					
LAP	L-leucina- β -naftilamide	0,0256	Leucina AminoPeptidasi	Incolore		Arancione					
ADH	L-arginina	1,9	Arginina Diidrolasi	Giallo		Rosso					
<u>RIB</u>	D-ribosio	1,4	acidificazione (RIBosio)	4 ore	24 ore	4 ore	24 ore				
				Rosso	Arancione/ Rosso	Arancione/ Giallo	Giallo				
				<u>ARA</u>	L-arabinosio	1,4	acidificazione (ARAbinosio)	Rosso	Arancione/ Rosso	Arancione/ Giallo	Giallo
				<u>MAN</u>	D-mannitolo	1,36	acidificazione (MANnitolo)	Rosso	Arancione/ Rosso	Arancione/ Giallo	Giallo
				<u>SOR</u>	D-sorbitolo	1,36	acidificazione (SORbitolo)	Rosso	Arancione/ Rosso	Arancione/ Giallo	Giallo
				<u>LAC</u>	D-lattosio (origine bovina)	1,4	acidificazione (LAttosio)	Rosso	Arancione/ Rosso	Arancione/ Giallo	Giallo
				<u>TRE</u>	D-trealosio	1,32	acidificazione (TREalosio)	Rosso	Arancione/ Rosso	Arancione/ Giallo	Giallo
				<u>INU</u>	inulina	5,12	acidificazione (INUlina)	Rosso	Arancione/ Rosso	Arancione/ Giallo	Giallo
				<u>RAF</u>	D-raffinosio	3,12	acidificazione (RAFFinosio)	Rosso	Arancione/ Rosso	Arancione/ Giallo	Giallo
<u>AMD</u>	amido (2)	2,56	acidificazione (AMiDo)	Rosso	Arancione/ Rosso	Arancione/ Giallo	Giallo				
<u>GLYG</u>	glicogeno	1,28	acidificazione (GLiCoGeno)	Rosso o Arancione		Giallo acceso					

(1) Nella seconda lettura dopo 24 ore di incubazione, si può notare la presenza di un deposito nelle provette in cui sono stati aggiunti ZYM A e ZYM B. questo fenomeno è del tutto normale e non deve essere preso in considerazione.

(2) L'acidificazione dell'amido è spesso meno intensa rispetto a quella degli altri zuccheri.

(3) Una colorazione rosa pallido ottenuta dopo 10 minuti deve essere considerata negativa.

- Le quantità indicate possono variare in funzione dei titoli delle materie prime.
- Certe cupole contengono dei componenti di origine animale, in particolare dei peptoni.

PROCEDIMENTO p. I
TABELLA DI IDENTIFICAZIONE p. II

BIBLIOGRAFIA p. III
TABELLA DEI SIMBOLI p. IV

BIOMERIEUX, il logo blu, API e **apiweb** sono marchi utilizzati, depositati e/o registrati di proprietà di bioMérieux SA o di una delle sue filiali.

CLSI è un marchio di proprietà di Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

ATCC è un marchio di proprietà di American Type Culture Collection.

Gli altri marchi e nomi di prodotti menzionati in questo documento sono marchi commerciali dei loro rispettivi detentori.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Étoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Stampato in Francia



Sistema de identificação dos *Streptococcaceae* e microrganismos semelhantes

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

O API 20 Strep é um sistema padronizado que associa 20 testes bioquímicos que apresentam um elevado poder discriminatório. Permite efectuar um diagnóstico de grupo ou de espécie para a maioria dos estreptococos, enterococos e para os microrganismos semelhantes mais correntes. A lista completa das bactérias possíveis de identificar com este sistema encontra-se no Quadro de Identificação no final do folheto informativo.

PRINCÍPIO

A galeria API 20 Strep comporta 20 microtubos que contêm substratos desidratados para a detecção de actividades enzimáticas ou de fermentação de açúcares.

Os testes enzimáticos são inoculados com uma suspensão densa, realizada a partir de uma cultura pura, que reconstitui os meios. As reacções produzidas durante o período de incubação traduzem-se por viragens coloridas espontâneas ou reveladas por adição de reagentes.

Os testes de fermentação são inoculados com um meio enriquecido (contendo um indicador de pH) que re-hidrata os açúcares. A fermentação dos carboidratos leva a uma acidificação que se traduz por uma viragem espontânea da cor do indicador.

A leitura destas reacções é efectuada com o Quadro de Leitura e a identificação obtém-se com o Catálogo Analítico ou um programa de identificação.

APRESENTAÇÃO (Embalagem de 25 testes)

- 25 galerias API 20 Strep
- 25 caixas de incubação
- 25 ampolas de API GP Medium
- 25 fichas de resultados
- 1 folheto informativo

COMPOSIÇÃO

Galeria

A composição da galeria API 20 Strep está indicada no quadro de leitura deste folheto informativo.

Meio

API GP	L-cistina	0,5 g
Medium	Triptona (origem bovina/porcina)	20 g
2 ml	Cloreto de sódio	5 g
	Sulfito de sódio	0,5 g
	Vermelho de fenol	0,17 g
	Água desmineralizada	q.b. 1000 ml
	pH : 7,4 - 7,6	

As quantidades indicadas podem ser ajustadas em função dos títulos das matérias-primas.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Reagentes / Aparelhos

- API® Suspension Medium, 2 ml (Ref. 70 700)
- Reagentes : NIN (Ref. 70 491)
- VP 1 + VP 2 (Ref. 70 422)
- ZYM A (Ref. 70 494)
- ZYM B (Ref. 70 493)
- Óleo de parafina (Ref. 70 100)
- McFarland Standard (Ref. 70 900) ponto 4 ou DENSIMAT (Ref. 99 234)
- Catálogo Analítico API 20 Strep (Ref. 20 690) ou programa de identificação **apiweb™** (Ref. 40 011) (consultar a bioMérieux)
- Gelose Columbia de sangue (Ref. 43 041)
- Caldo Schaedler (eventualmente)

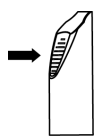
Materiais

- Zaragoas/swabs
- Pipetas ou PSipetas
- Suporte para ampolas
- Protector de ampola
- Jarra de anaerobiose
- Equipamento geral de laboratório de bacteriologia

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- **Para diagnóstico *in vitro* e controlo microbiológico.**
- **Unicamente para uso profissional.**
- Este dispositivo contém componentes de origem animal. O controlo da origem e/ou do estado sanitário dos animais não podem garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível, é recomendado manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (não ingerir; não inalar).
- As amostras, culturas bacterianas e produtos semeados devem ser considerados potencialmente infecciosos e manipulados de maneira apropriada. As técnicas assépticas e as precauções habituais de manipulação para o grupo bacteriano estudado devem ser respeitadas durante toda a manipulação; consultar o "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Revisão em vigor*". Para informações complementares sobre as precauções de manipulação, consultar o "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Última edição", ou a regulamentação em vigor no país de utilização.
- Não utilizar os reagentes após a data de validade.
- Antes da utilização, assegurar-se de que a embalagem e os componentes não estão danificados.
- Não utilizar galerias que tenham sofrido uma alteração física: cúpula deformada, saqueta do desidratante aberta, ...
- É aconselhado efectuar um controlo de qualidade antes de utilizar cada nova ampola de reagente ZYM B.

- Abrir cuidadosamente as ampolas, como abaixo indicado:



- Colocar a ampola no protector de ampola.
- Segurar o conjunto verticalmente numa mão (tampa branca para cima).
- Fechar bem a tampa.
- Pressionar horizontalmente com o polegar a parte estriada da tampa de forma a partir a extremidade da ampola.
- Retirar a ampola do protector de ampola e conservá-lo para uma posterior utilização.
- Retirar delicadamente a tampa.

- O comportamento funcional apresentado é obtido com o procedimento indicado neste folheto informativo. Qualquer desvio à metodologia pode alterar os resultados.
- A interpretação dos resultados do teste deve ser efectuada tendo em conta o contexto clínico ou outro, a origem da amostra, os aspectos macro e microscópicos da estirpe/cepa e, eventualmente, os resultados de outros testes, em especial, do antibiograma.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

As galerias e meios conservam-se a 2° - 8° C até à data de validade indicada na embalagem.

AMOSTRAS (COLHEITA/COLETA E PREPARAÇÃO)

O API 20 Strep não deve ser utilizado directamente em amostras de origem clínica ou outras.

Os microrganismos a identificar devem primeiro ser isolados num meio de cultura adaptado segundo as técnicas habituais de bacteriologia.

PROCEDIMENTO

Seleção das colónias

Após o isolamento e verificação de que a estirpe/cepa a identificar pertence ao género *Streptococcaceae* (reação de Gram, catalase) :

- Anotar o tipo de hemólise na ficha de resultados (21° teste).
- Colher/coletar uma colónia bem isolada (Nota 1) e colocá-la em suspensão com 0,3 ml de água estéril. Homogeneizar correctamente.
- Inundar uma placa de gelose Columbia com sangue de carneiro (Nota 2) com esta suspensão (ou fazer uma sementeira estéril em toda a superfície da gelose).
- Incubar a placa 24 horas (\pm 2 horas) a 36° C \pm 2° C em anaerobiose.

NOTA 1: Os Estreptococos β -hemolíticos e os Enterococos apresentam colónias de tamanho suficiente após 24 horas de incubação. Para os outros Estreptococos, é preferível colher/coletar as colónias de 48 horas. Para as estirpes/cepas de cultura difícil (colónias muito pequenas às 48 horas) é aconselhável proceder da seguinte maneira :

- Cultivar a colónia em 1 ml de caldo de Schaedler a 36°C \pm 2°C durante 5 horas.
- Inundar uma placa de gelose Columbia com sangue de carneiro com a totalidade desta cultura. Eliminar o excesso.
- Incubar a placa 18 a 24 horas a 36°C \pm 2°C em anaerobiose.

NOTA 2: Para obter um crescimento suficiente, é preferível preparar 2 geloses se se suspeitar que a estirpe/cepa é um pneumococo.

Preparação da galeria

- Juntar fundo e tampa de uma caixa de incubação e distribuir cerca de 5 ml de água destilada ou desmineralizada [ou qualquer água sem aditivos ou derivados susceptíveis de libertarem gases (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] nos alvéolos para criar uma atmosfera húmida.
- Inscrever a referência da estirpe/cepa na lingueta lateral da caixa. (Não inscrever a referência na tampa, esta pode ser movida durante a manipulação).
- Retirar a galeria da embalagem.
- Colocar a galeria na caixa de incubação.

Preparação do inóculo

- Abrir uma ampola de API Suspension Medium (2 ml) como indicado no parágrafo "Precauções de utilização" ou utilizar um tubo contendo 2 ml de água destilada sem aditivo.
- Utilizando uma zaragatoa/swab, colher/coletar toda a cultura previamente preparada.
- Preparar uma suspensão bastante densa : **opacidade superior a 4 de McFarland**. Esta suspensão deve ser utilizada imediatamente após a sua preparação.

Inoculação da galeria

- Na primeira metade da galeria (testes VP a ADH) distribuir a suspensão anterior evitando a formação de bolhas (inclinando ligeiramente a caixa de incubação para a frente e colocar a ponta da pipeta ou da PSipeta de lado na cúpula) :
 - Para os testes VP a LAP : distribuir cerca de 100 μ l em cada cúpula.
 - Para o teste ADH : encher unicamente o tubo.
- Na segunda metade da galeria (testes RIB a GLYG) :
 - abrir uma ampola de API GP Medium como indicado no parágrafo "Precauções de utilização" e transferir o resto da suspensão, ou seja 0,5 ml no mínimo. Homogeneizar correctamente.
 - distribuir esta nova suspensão unicamente nos tubos.
- Encher as cúpulas dos testes sublinhados ADH a GLYG com óleo de parafina formando um menisco convexo.
- Fechar a caixa de incubação.
- Incubar a 36°C \pm 2°C em aerobiose durante 4H00 – 4H30 para uma primeira leitura e 24 horas (\pm 2 horas) se necessário, para uma segunda leitura.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

Leitura da galeria

Após 4 horas de incubação :

- Adicionar os reagentes :
 - teste VP : 1 gota de VP 1 e VP 2.
 - teste HIP : 2 gotas de NIN.
 - testes PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP : 1 gota de ZYM A e ZYM B (*).
- (* **É aconselhado controlar** cada ampola de reagente ZYM B antes da 1ª utilização. Para tal, é aconselhado utilizar a **estirpe/cepa ATCC® 700400** indicada no parágrafo Controlo de Qualidade para excluir qualquer reagente defeituoso.
- Esperar 10 minutos, depois ler todas as reacções consultando o Quadro de Leitura. Se necessário, colocar a galeria por baixo de uma lâmpada potente (1000 W) 10 segundos para descolorar o reagente em excesso nos tubos PYRA a LAP.

É necessária uma reincubação nos casos seguintes:

- fraca discriminação;
- perfil inaceitável;
- se a nota seguinte for indicada para o perfil obtido :

**IDENTIFICAÇÃO NÃO VÁLIDA
ANTES DE 24 H DE INCUBAÇÃO**

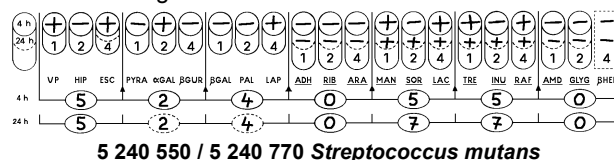
Ler novamente após 24 horas as reacções ESC, ADH e RIB a GLYG **sem ler novamente as reacções enzimáticas** (HIP, PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP) e VP. Anotar todas as reacções na ficha de resultados.

Interpretação

A identificação é obtida a partir do **perfil numérico**.

- Determinação do perfil numérico :
Na ficha de resultados, os testes são separados por grupos de três e um valor 1, 2 ou 4 é indicado para cada um. Adicionando no interior de cada grupo os valores correspondentes às reacções positivas, obtêm-se 7 algarismos que constituem o perfil numérico.

- Identificação :
A identificação pode obter-se a partir da base de dados (V7.0)
* com o Catálogo Analítico :
- Pesquisar o perfil numérico na lista dos perfis.
* com o sistema de identificação **apiweb™** :
- Introduzir manualmente no teclado o perfil numérico com 7 algarismos.



NOTA : A reacção hemolítica constitui o 21º teste ; a β -hemólise é considerada positiva e o seu valor numérico é 4. Qualquer outra reacção hemolítica é considerada negativa e o seu valor numérico é 0. Todavia, estes caracteres têm um valor indicativo para a identificação de certas espécies.

CONTROLO DE QUALIDADE

Os galerias, meios e reagentes são sujeitos a controlos de qualidade sistemáticos nas diferentes etapas do seu fabrico.

O **Controlo de Qualidade Mínimo** pode ser utilizado para verificar se as condições de armazenamento e de transporte não tiveram impacto no comportamento funcional da galeria API 20 Strep. Este controlo pode ser efectuado seguindo as instruções e critérios acima esperados em relação ao referencial CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

O Controlo pode ser efectuado utilizando a estirpe/cepa **Streptococcus equi spp zooepidemicus ATCC® 700400** para avaliar o comportamento funcional do teste ARA. Foram efectuados estudos pela bioMérieux que demonstraram que na galeria API 20 Strep, o teste ARA é o teste mais sensível. No controlo, a integridade da galeria pode ser verificada utilizando a estirpe/cepa *Streptococcus equi spp zooepidemicus* ATCC 700400.

No caso de ser exigido um **controlo de Qualidade Completo** para esta galeria, as duas estirpes/cepas seguintes deverão ser testadas para verificar as reacções positivas e negativas da maioria dos testes da galeria API 20 Strep.

1. *Streptococcus equi spp zooepidemicus* ATCC 700400 2. *Streptococcus uberis* ATCC 700407

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

* Este resultado pode variar em função do meio de cultura utilizado.

- Inóculo ajustado entre 4,5 e 5,5 McF com DENSIMAT.
- Perfis obtidos após :
- 4 horas de incubação para os testes VP a LAP
- 24 horas de incubação para os testes ADH a GLYG.
- Estirpes/cepas cultivadas em gelose Columbia com sangue de carneiro.

É da responsabilidade do utilizador assegurar que o controlo de qualidade é efectuado em conformidade com a legislação local em vigor.

LIMITES DO TESTE

- O sistema API 20 Strep destina-se à identificação das espécies presentes na base de dados (consultar o Quadro de Identificação no final do folheto informativo), e apenas a estas. Não pode ser utilizado para identificar outros microrganismos ou excluir a sua presença.
- Algumas estirpes/cepas de *Streptococcus porcinus* podem ser identificadas como *Streptococcus agalactiae*.
- Devem apenas ser utilizadas culturas puras contendo um único tipo de microrganismo.

RESULTADOS ESPERADOS

Consultar o Quadro de Identificação no final deste folheto informativo para saber os resultados esperados para as diferentes reacções bioquímicas.

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

- Após 4 horas de incubação :
Foram testadas 2336 estirpes/cepas de diversas origens e estirpes/cepas de colecção pertencentes às espécies da base de dados :
 - 87,9% das estirpes/cepas foram correctamente identificadas (com ou sem testes complementares).
 - 5,7% das estirpes/cepas não foram identificadas.
 - 6,4% das estirpes/cepas foram mal identificadas.

- Após 24 horas de incubação :

Foram testadas 3782 estirpes/cepas de diversas origens e estirpes/cepas de colecção pertencentes às espécies da base de dados :

- 93,4% das estirpes/cepas foram correctamente identificadas (com ou sem testes complementares).
- 3,2% das estirpes/cepas não foram identificadas.
- 3,4% das estirpes/cepas foram mal identificadas.

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

Eliminar os reagentes utilizados ou não utilizados assim como os materiais de utilização única contaminados em conformidade com os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.

É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

QUADRO DE LEITURA

TESTES	COMPONENTES ACTIVOS	QTD (mg/cúp.)	REACÇÕES/ENZIMAS	RESULTADOS			
				NEGATIVO		POSITIVO	
VP	Piruvato de sódio	1,9	Produção de acetona (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / até 10 min (3)			
				Incolor		Rosa-Vermelho	
HIP	ácido hipúrico	0,4	hidrólise (ácido HIPúrico)	NIN / até 10 min			
				Incolor/Azul pálido Cinzento-azulado		Azul escuro/Violeta	
ESC	esculina citrato de ferro	1,16 0,152	hidrólise β-glucosidase (ESCulina)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Incolor Amarelo pálido	Incolor Amarelo pálido Cinzento claro	Negro Cinzento	Negro
PYRA	ácido piroglutâmico-β-naftilamida	0,0256	PYRrolidonil Arilamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA a LAP) (1) se necessário descolorado por exposição à luz intensa			
				Incolor ou Laranja muito pálido		Laranja	
αGAL	6-bromo-2-naftil-αD-galactopiranosido	0,0376	α-GALactosidase	Incolor		Violeta	
βGUR	ácido naftol-ASBI-glucuronato	0,0537	β-GIUcuRonidase	Incolor		Azul	
βGAL	2-naftil-βD-galactopiranosido	0,0306	β-GALactosidase	Incolor ou Violeta muito pálido		Violeta	
PAL	2-naftil fosfato	0,0244	Fosfato Alcalina	Incolor ou Violeta muito pálido		Violeta	
LAP	L-leucina-β-naftilamida	0,0256	Leucina AminoPeptidase	Incolor		Laranja	
ADH	L-arginina	1,9	Arginina DiHidrolase	Amarelo		Vermelho	
				4 h	24 h	4 h	24 h
RIB	D-ribose	1,4	Acidificação (RIBose)	Vermelho	Laranja/ Vermelho	Laranja/ Amarelo	Amarelo
ARA	L-arabinose	1,4	Acidification (ARAbinose)	Vermelho	Laranja/ Vermelho	Laranja/ Amarelo	Amarelo
MAN	D-manitol	1,36	Acidificação (MANitol)	Vermelho	Laranja/ Vermelho	Laranja/ Amarelo	Amarelo
SOR	D-sorbitol	1,36	Acidificação (SORbitol)	Vermelho	Laranja/ Vermelho	Laranja/ Amarelo	Amarelo
LAC	D-lactose (origem bovina)	1,4	Acidificação (LACTose)	Vermelho	Laranja/ Vermelho	Laranja/ Amarelo	Amarelo
TRE	D-trealose	1,32	Acidificação (TREalose)	Vermelho	Laranja/ Vermelho	Laranja/ Amarelo	Amarelo
INU	inulina	5,12	Acidificação (INUlina)	Vermelho	Laranja/ Vermelho	Laranja/ Amarelo	Amarelo
RAF	D-rafinose	3,12	Acidificação (RAFinose)	Vermelho	Laranja/ Vermelho	Laranja/ Amarelo	Amarelo
AMD	amido (2)	2,56	acidificação (AmiDo)	Vermelho	Laranja/ Vermelho	Laranja/ Amarelo	Amarelo
GLYG	glicogénio	1,28	acidificação (GLIcoGénio)	Vermelho ou Laranja		Amarelo	

(1) Numa segunda leitura após 24 horas de incubação, pode-se notar um depósito nos tubos onde foram adicionados os reagentes ZYM A e ZYM B. Este fenómeno é normal e não deve ser levado em consideração.

(2) A acidificação do amido é frequentemente menor que a dos outros açúcares.

(3) Uma coloração rosa pálido obtida após 10 minutos deve ser considerada negativa.

- As quantidades indicadas podem ser ajustadas em função dos títulos das matérias-primas.
- Algumas cúpulas contêm componentes de origem animal, nomeadamente peptonas.

PROCEDIMENTO

p. I

BIBLIOGRAFIA

p. III

QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO

p. II

QUADRO DE SÍMBOLOS

p. IV

A BIOMERIEUX, o logotipo azul, API e **apiweb** são marcas utilizadas, depositadas e/ou registadas, propriedade exclusiva da bioMérieux, SA ou de uma das suas filiais.

CLSI é uma marca da propriedade exclusiva da Clinical and Laboratory Standards Institute, Inc.

ATCC é uma marca da propriedade da American Type Culture Collection.

As outras marcas e nomes de produtos mencionados neste documento são marcas comerciais dos respectivos proprietários.

Brasil: Distribuído por bioMérieux Brasil, S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261

CNPJ: 33.040.635/0001-71

Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848

Prazo de Validade, N° de Lote, N° de Registro de Ministério da Saúde e Responsável Técnico:

VIDE EMBALAGEM



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Impresso em França



Σύστημα ταυτοποίησης για *Streptococcaceae* και σχετικούς οργανισμούς

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Το API 20 Strep αποτελεί ένα προτυποποιημένο σύστημα που συνδυάζει 20 βιοχημικές εξετάσεις οι οποίες προσφέρουν εκτεταμένες δυνατότητες. Επιτρέπει την ταυτοποίηση ομάδων ή ειδών των περισσότερων στρεπτόκοκκων και εντερόκοκκων, και εκείνων των πιο συνηθισμένων σχετικών οργανισμών. Ο πλήρης κατάλογος εκείνων των οργανισμών που είναι δυνατόν να ταυτοποιηθούν με αυτό το σύστημα παρατίθεται στον Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγίου.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ταινία API 20 Strep αποτελείται από 20 μικροσωλήνες που περιέχουν αφυδατωμένα υποστρώματα για την εκδήλωση ενζυμικής δραστηριότητας ή τη ζύμωση σακχάρων.

Οι ενζυμικές εξετάσεις ενοφθαλμίζονται με πυκνό εναιώρημα οργανισμών, που φτιάχνεται από μια καθαρή καλλιέργεια, και το οποίο χρησιμοποιείται για την ανασύσταση των ενζυμικών υποστρωμάτων. Κατά τη διάρκεια της επώασης, ο μεταβολισμός προκαλεί χρωματικές μεταβολές που είτε είναι αυτόματες, ή αποκαλύπτονται με την προσθήκη των αντιδραστηρίων.

Οι εξετάσεις ζύμωσης ενοφθαλμίζονται με ένα εμπλουτισμένο υλικό το οποίο ενυδατώνει τα υποστρώματα σακχάρου. Η ζύμωση των υδατανθράκων ανιχνεύεται με μια μετατόπιση στο δείκτη του pH.

Οι αντιδράσεις διαβάζονται σύμφωνα με τον Πίνακα Ανάγνωσης και η ταυτοποίηση γίνεται με αναφορά στον Κατάλογο Αναλυτικών Προφίλ ή χρησιμοποιώντας το λογισμικό ταυτοποίησης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ (Συσκευασία για 25 εξετάσεις)

- 25 ταινίες API 20 Strep
- 25 κυτία επώασης
- 25 φύσιγγες API GP Medium
- 25 φύλλα αποτελεσμάτων
- 1 εσώκλειστο οδηγίου

ΣΥΝΘΕΣΗ

Ταινία

Η σύνθεση της ταινίας API 20 Strep δίνεται στον Πίνακα Ανάγνωσης αυτού του εσώκλειστου οδηγίου.

Υλικό

API GP Medium 2 ml	L-κυστίνη	0,5 g
	Τρυπτόνη (βόειος/χόιρειος προέλευση)	20 g
	Χλωριούχο νάτριο	5 g
	Θειώδες νάτριο	0,5 g
	Ερυθρό της φαινόλης	0,17 g
	Απιονισμένο ύδωρ για να γίνουν 1000 ml pH : 7,4 – 7,6	

Οι αναγραφόμενες ποσότητες μπορούν να ρυθμίζονται ανάλογα με τον τίτλο των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Αντιδραστήρια/ Όργανα

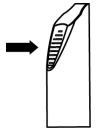
- API® Suspension Medium, 2 ml (Κωδ. 70 700)
- Αντιδραστήρια :
 - NIN (Κωδ. 70 491)
 - VP 1 + VP 2 (Κωδ. 70 422)
 - ZYM A (Κωδ. 70 494)
 - ZYM B (Κωδ. 70 493)
- Mineral oil (Κωδ. 70 100)
- McFarland Standard (Κωδ. 70 900) σημείο 4 στην κλίμακα ή DENSIMAT (Κωδ. 99 234)
- Κατάλογος Αναλυτικών Προφίλ API 20 Strep (Κωδ. 20 690) ή λογισμικό ταυτοποίησης **apiweb™** (Κωδ. 40 011) (συμβουλευθείτε την bioMérieux)
- Τρυβλία αιματούχου άγαρ Columbia (Κωδ. 43 041)
- Ζωμός Schaedler (προαιρετικός)

Υλικά

- Στυλεοί
- Πιπέττες ή PSIpettes
- Εσχάρα για φύσιγγες
- Προστατευτική συσκευή φυσιγγων
- Αναερόβιο δοχείο
- Γενικός μικροβιολογικός εργαστηριακός εξοπλισμός

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση και μικροβιολογικό έλεγχο.
- Αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση.
- Αυτή η συσκευασία περιέχει προϊόντα ζωικής προέλευσης. Πιστοποιημένη γνώση της προέλευσης ή/και της υγειονομικής κατάστασης των ζώων δεν εγγυάται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα προϊόντα να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μην λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).
- Όλα τα δείγματα, οι μικροβιακές καλλιέργειες και τα ενοφθαλμισμένα προϊόντα θα πρέπει να θεωρούνται μολυσματικά και να αντιμετωπίζονται καταλλήλως. Άσηπτες τεχνικές και οι συνήθειες προφυλάξεις χειρισμού για τη μελετώμενη βακτηριακή ομάδα θα πρέπει να τηρούνται σε όλη την διάρκεια της διαδικασίας. Αναφερθείτε στο έγγραφο "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – Τρέχουσα αναθεώρηση". Για πρόσθετες προφυλάξεις κατά το χειρισμό, αναφερθείτε στο "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH – Τελευταία έκδοση", ή στους ισχύοντες κανονισμούς κάθε χώρας.
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.
- Πριν από τη χρήση, βεβαιωθείτε ότι η συσκευασία και τα περιεχόμενα είναι άθικτα.
- Μη χρησιμοποιείτε ταινίες οι οποίες παρουσιάζουν φθορές : παραμορφωμένα κυπέλια, σακουλάκι ξηραντικής ουσίας, κλπ.
- Συνιστάται να πραγματοποιείτε μια εξέταση ποιοτικού ελέγχου όταν ανοίγετε μια νέα φύσιγγα αντιδραστηρίου ZYM B.

- Ανοίξτε τις φύσιγγες προσεκτικά ως εξής :
 - Τοποθετήστε την φύσιγγα στην προστατευτική συσκευή.
 - Κρατήστε την προστατευμένη φύσιγγα με το ένα χέρι σε κάθετη θέση (το λευκό πλαστικό κάλυμμα προς τα πάνω).
- 
 - Πιέστε το κάλυμμα προς τα κάτω για όσο μεγαλύτερη απόσταση γίνεται.
 - Τοποθετήστε το ρύγχος στο ραβδωτό τμήμα του καλύμματος και πιέστε προς τα εμπρός για να αφαιρέσετε σπάζοντας την κορυφή της φύσιγγας.
 - Βγάλτε την φύσιγγα από την προστατευτική συσκευή και φυλάξτε την προστατευτική συσκευή για επόμενη χρήση.
 - Προσεκτικά αφαιρέστε το κάλυμμα.
- Τα δεδομένα απόδοσης της μεθόδου που παρουσιάζονται ελήφθησαν ακολουθώντας τη διαδικασία η οποία περιγράφεται σε αυτό το εσώκλειστο οδηγίων. Οποιαδήποτε αλλαγή ή τροποποίηση της διαδικασίας μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα.
- Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης πρέπει να γίνεται λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενή, την προέλευση του δείγματος, τη μορφολογία των αποικιών και τη μικροσκοπική εικόνα του στελέχους και, αν χρειάζεται, τα αποτελέσματα από όποιες άλλες εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί, ιδιαίτερα τις εξετάσεις ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ

Οι ταινίες και τα υλικά πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ (ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ)

Το API 20 Strep δεν προορίζεται για απευθείας χρήση με κλινικά ή άλλα δείγματα.

Οι μικροοργανισμοί προς ταυτοποίηση πρέπει πρώτα να απομονωθούν σε κατάλληλο υλικό καλλιέργειας σύμφωνα με πρότυπες μικροβιολογικές τεχνικές.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Επιλογή αποικιών

Μόλις ο μικροοργανισμός που πρόκειται να ταυτοποιηθεί έχει απομονωθεί και πιστοποιηθεί ως μέλος της οικογένειας *Streptococcaceae* (Gram, εξέταση καταλάσης) :

- Σημειώστε το είδος της αιμόλυσης στο φύλλο αποτελεσμάτων (21η εξέταση).
- Λάβετε μια καλά απομονωμένη αποικία (Σημείωση 1) και εναιωρήστε την σε 0.3 ml στείρου ύδατος. Ομογενοποιήστε καλά.
- Γεμίστε πλήρως ένα τρυβλίο άγαρ Columbia με αίμα προβάτου (Σημείωση 2) με αυτό το εναιώρημα (ή ασηπτικά επιστρώστε ολόκληρη την επιφάνεια του άγαρ).
- Επώαστε το τρυβλίο για 24 ώρες (± 2 ώρες) στους $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ σε αναερόβιες συνθήκες.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ 1 : Οι β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι και εντερόκοκκοι αναπτύσσονται επαρκώς μεγάλες αποικίες μετά από 24 ώρες επώασης. Για άλλους στρεπτόκοκκους, είναι προτιμότερο να επιλέγετε μια αποικία μετά από 48 ώρες επώασης. Για απαιτητικά στελέχη (που αναπτύσσονται μικροσκοπικές αποικίες μετά από 48 ώρες), συνιστάται η παρακάτω διαδικασία :

- Καλλιιεργήστε την αποικία σε 1 ml ζωμού Schaedler στους $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ για 5 ώρες.
- Γεμίστε πλήρως ένα τρυβλίο άγαρ Columbia με αίμα προβάτου με ολόκληρη την καλλιέργεια. Απομακρύνετε τυχόν περίσσεια υγρού.
- Επώαστε το τρυβλίο για 18-24 ώρες στους $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ σε αναερόβιες συνθήκες.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ 2 : Σε περίπτωση υποψίας πνευμονιόκοκκων, ενδείκνυται να προετοιμάσετε 2 τρυβλία άγαρ έτσι ώστε να προκύψει επαρκής ανάπτυξη.

Προετοιμασία της ταινίας

- Προετοιμάστε ένα κυτίο επώασης (δίσκος και κάλυμμα) και διανείμετε περίπου 5 ml απεσταγμένου ή απιονισμένου ύδατος [ή οποιουδήποτε ύδατος χωρίς πρόσθετα ή χημικά που μπορεί να απελευθερώσουν αέρια (π.χ. Cl₂, CO₂, κτλ.)] στις κυψέλες του δίσκου για να δημιουργηθεί μια υγρή ατμόσφαιρα.
- Καταγράψτε τον κωδικό του στελέχους στο επίμηκες πτερύγιο του δίσκου. (Μην καταγράφετε τον κωδικό στο κάλυμμα, διότι μπορεί να τοποθετηθεί λανθασμένα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας).
- Αφαιρέστε την ταινία από την ατομική της συσκευασία.
- Τοποθετήστε την ταινία στο κυτίο επώασης.

Προετοιμασία του εναιωρήματος

- Ανοίξτε μια φύσιγγα API Suspension Medium (2 ml) όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις" ή χρησιμοποιήστε οποιοδήποτε σωληνάριο που περιέχει 2 ml απεσταγμένου ύδατος χωρίς πρόσθετα.
- Χρησιμοποιώντας ένα στυλεό, συλλέξτε όλη την καλλιέργεια από το τρυβλίο ανακαλλιέργειας που είχε προετοιμαστεί προηγουμένως.
- Φτιάξτε ένα πυκνό εναιώρημα με **θολερότητα μεγαλύτερη από 4 McFarland**. Το εναιώρημα αυτό πρέπει να χρησιμοποιηθεί αμέσως μετά την προετοιμασία.

Ενοφθαλμισμός της ταινίας

- Στο πρώτο μισό της ταινίας (εξετάσεις VP έως ADH), διανείμετε αυτό το εναιώρημα, αποφεύγοντας τον σχηματισμό φυσαλίδων (γείρετε την ταινία ελαφρώς προς τα εμπρός και τοποθετήστε το ρύγχος της πιπέτας ή της PSIPette στην πλαϊνή επιφάνεια του κυπέλιου) :
 - Για τις εξετάσεις VP έως LAP : διανείμετε περίπου 100 μl σε κάθε κυπέλιο.
 - Για την εξέταση ADH : γεμίστε μόνο το σωληνάριο.
- Στο δεύτερο μισό της ταινίας (εξετάσεις RIB έως GLYG) :
 - Ανοίξτε μια φύσιγγα API GP Medium όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις" και μεταφέρετε το υπόλοιπο του εναιωρήματος μέσα σε αυτήν (περίπου 0.5 ml). Αναδεύστε καλά.
 - Διανείμετε αυτό το νέο εναιώρημα μόνον μέσα στα σωληνάκια.
- Γεμίστε το κυπέλιο των υπογραμμισμένων εξετάσεων (ADH έως GLYG) με παραφινέλαιο για να σχηματίσετε ένα κυρτό μηνίσκο.
- Τοποθετήστε το κάλυμμα επάνω στον δίσκο.
- Επώαστε στους $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ σε αερόβιες συνθήκες για 4 - 4 ½ ώρες για να προκύψει μια πρώτη ανάγνωση και για 24 ώρες (± 2 ώρες) για να προκύψει μια δεύτερη ανάγνωση, αν χρειάζεται.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Ανάγνωση της ταινίας

Μετά από 4 ώρες επώασης :

- Προσθέστε τα αντιδραστήρια :
 - Εξέταση VP : 1 σταγόνα από κάθε VP 1 και VP 2.
 - Εξέταση HIP : 2 σταγόνες NIN.
 - Εξετάσεις PYRA, αGAL, βGUR, βGAL, PAL και LAP : 1 σταγόνα από κάθε ZYM A και ZYM B (*).
- (*) **Συνιστάται να ελέγχετε** κάθε φύσιγγα ZYM B πριν τη χρησιμοποιήσετε για πρώτη φορά.
 Για να γίνει αυτό, συνιστάται να χρησιμοποιείτε το **στέλεχος ATCC® 700400** που αναγράφεται στην παράγραφο Ποιοτικός Έλεγχος με σκοπό να αποβληθούν τυχόν ελαττωματικά αντιδραστήρια.

- Περιμένετε 10 λεπτά, έπειτα διαβάστε τις αντιδράσεις με βάση τον Πίνακα Ανάγνωσης. Αν είναι απαραίτητο, εκθέστε την ταινία σε δυνατό φως (10 δευτερόλεπτα με μια λάμπα 1000 W) για να αποχρωματίσετε τυχόν περίσσεια αντιδραστηρίων σε σωληνάρια PYRA έως LAP.

Η επανεπίπωση είναι απαραίτητη στις παρακάτω περιπτώσεις:

- χαμηλή διάκριση ;
- μη έγκυρο ή αβέβαιο προφίλ ;
- ή αν η παρακάτω σημείωση δίνεται για το προφίλ :

**ΜΗ ΕΓΚΥΡΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ
 ΠΡΙΝ ΑΠΟ 24 ΩΡΕΣ ΕΠΩΑΣΗΣ**

Σε αυτή την περίπτωση, μετά από 24 ώρες, ξαναδιαβάστε τις αντιδράσεις ESC, ADH, και RIB έως GLYG. **Μην ξαναδιαβάσετε τις ενζυμικές αντιδράσεις** (HIP, PYRA, αGAL, βGUR, βGAL, PAL, LAP) και VP. Καταγράψτε όλες τις αντιδράσεις στο φύλλο αποτελεσμάτων.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Τα υλικά και οι ταινίες υποβάλλονται συστηματικά σε ποιοτικό έλεγχο σε διάφορα στάδια της παραγωγής τους.

Εκλογικευμένος ποιοτικός έλεγχος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να επιβεβαιωθεί η αποδεκτή απόδοση του συστήματος API 20 Strep μετά τη μεταφορά/φύλαξη. Η μεθοδολογία αυτή μπορεί να εφαρμοστεί ακολουθώντας τις παραπάνω οδηγίες για την εξέταση και συμφωνώντας με τα κριτήρια που δηλώνονται στο CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems. (Ποιοτικός Έλεγχος για Εμπορικά Συστήματα Μικροβιακής Ταυτοποίησης).

Ο έλεγχος μπορεί να διεξαχθεί χρησιμοποιώντας **Streptococcus equi spp zooepidemicus ATCC® 700400** για να αξιολογηθεί η απόδοση της εξέτασης ARA. Ο έλεγχος που πραγματοποιήθηκε από την bioMérieux έδειξε ότι η εξέταση ARA είναι η πιο ευαίσθητη στη ταινία API 20 Strep. Κατά τον έλεγχο, η ακεραιότητα της ταινίας μπορεί να επαληθευτεί χρησιμοποιώντας το στέλεχος **Streptococcus equi spp zooepidemicus ATCC 700400**.

Για εκείνους τους χρήστες που τους ζητείται να διεξάγουν **αναλυτική εξέταση ποιοτικού ελέγχου** με την ταινία, θα πρέπει να εξετάζονται τα δύο παρακάτω στελέχη για να εκδηλώνεται θετική και αρνητική αντιδραστικότητα για τις περισσότερες από τις εξετάσεις API 20 Strep.

1. *Streptococcus equi spp zooepidemicus* ATCC 700400
2. *Streptococcus uberis* ATCC 700407

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	αGAL	βGUR	βGAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

* Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το υλικό καλλιέργειας που χρησιμοποιήθηκε.

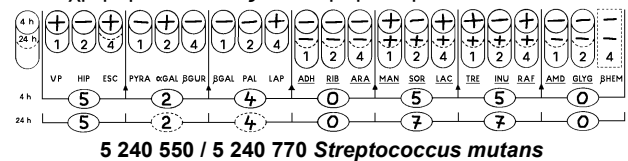
- Εναιώρημα που ρυθμίστηκε μεταξύ 4,5 και 5,5 McF χρησιμοποιώντας DENSIMAT.
- Προφίλ που προέκυψαν μετά από :
 - 4 ώρες επώασης για εξετάσεις VP έως LAP
 - 24 ώρες επώασης για εξετάσεις ADH έως GLYG.
- Στελέχη που καλλιεργήθηκαν σε άγαρ Columbia με αίμα προβάτου.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να διεξάγει τον Ποιοτικό Έλεγχο σύμφωνα με τους εκάστοτε τοπικούς ισχύοντες κανονισμούς.

Ερμηνεία

Η ταυτοποίηση προκύπτει με το **αριθμητικό προφίλ**.

- Προσδιορισμός του αριθμητικού προφίλ :
 Στο φύλλο αποτελεσμάτων, οι εξετάσεις χωρίζονται σε ομάδες των 3 και για κάθε μια δίνεται τιμή 1, 2 ή 4. Προσθέτοντας τις τιμές που αντιστοιχούν σε θετικές αντιδράσεις μέσα σε κάθε ομάδα, προκύπτει ένας 7ψήφιος αριθμός προφίλ.
- Ταυτοποίηση :
 Εκτελείται χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων (V 7.0)
 * με τον Κατάλογο Αναλυτικών Προφίλ :
 - Αναζητήστε το αριθμητικό προφίλ στον κατάλογο των προφίλ.
 * με το λογισμικό ταυτοποίησης **apiweb™** :
 - Εισάγετε το 7ψήφιο αριθμητικό προφίλ χειροκίνητα χρησιμοποιώντας το πληκτρολόγιο.



ΣΗΜΕΙΩΣΗ : Η αιμολυτική αντίδραση αποτελεί την 21η εξέταση. Η β-αιμόλυση θεωρείται ως θετική με αριθμητική αξία 4. Όλες οι άλλες αιμολυτικές αντιδράσεις θεωρούνται ως αρνητικές με αριθμητική αξία 0. Παρόλα αυτά, αυτή η εξέταση μπορεί να είναι ξεχωριστής αξίας για την ταυτοποίηση ορισμένων ειδών.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Το σύστημα API 20 Strep προορίζεται μόνο για ταυτοποίηση εκείνων των ειδών που περιλαμβάνονται στη βάση δεδομένων (βλέπε Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγίου). Δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ταυτοποιήσει οποιοσδήποτε άλλους μικροοργανισμούς ή για να αποκλείσει την παρουσία τους.
- Ορισμένα στελέχη *Streptococcus porcinus* μπορούν να ταυτοποιηθούν ως *Streptococcus agalactiae*.
- Μόνον καθαρές καλλιέργειες αποκλειστικά ενός οργανισμού πρέπει να χρησιμοποιηθούν.

ΕΥΡΟΣ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Συμβουλευθείτε τον Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγίου για το εύρος των αναμενόμενων αποτελεσμάτων για τις διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις.

ΑΠΟΔΟΣΗ

- Μετά από 4 ώρες επώασης :
Εξετάστηκαν 2336 στελέχη συλλογής και στελέχη διάφορων προελεύσεων που ανήκουν σε είδη που συμπεριλαμβάνονται στη βάση δεδομένων :
 - 87,9 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν σωστά (με ή χωρίς συμπληρωματικές εξετάσεις).
 - 5,7 % των στελεχών δεν ταυτοποιήθηκαν.
 - 6,4 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν λανθασμένα.

- Μετά από 24 ώρες επώασης :
Εξετάστηκαν 3782 στελέχη συλλογής και στελέχη διάφορων προελεύσεων που ανήκουν σε είδη που συμπεριλαμβάνονται στη βάση δεδομένων :
 - 93,4 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν σωστά (με ή χωρίς συμπληρωματικές εξετάσεις).
 - 3,2 % των στελεχών δεν ταυτοποιήθηκαν.
 - 3,4 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν λανθασμένα.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα ή μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια καθώς και οποιαδήποτε άλλα επιμολυσμένα αναλώσιμα υλικά ακολουθώντας τις διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικώς μολυσματικά προϊόντα.

Αποτελεί ευθύνη κάθε εργαστηρίου να αντιμετωπίζει τα άχρηστα υλικά και τα υγρά εκροής που παράγονται, σύμφωνα με τον τύπο και τον βαθμό επικινδυνότητάς τους και να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ

ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ	ΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΠΟΣ. (mg/κυτ.)	ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ/ΕΝΖΥΜΑ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ			
				ΑΡΝΗΤΙΚΟ		ΘΕΤΙΚΟ	
VP	πυροσταφυλικό νάτριο	1,9	παραγωγή ακετοΐνης (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / περιμένετε 10 λεπτά (3)			
				Άχρωμο		Ρόδινο-Ερυθρό	
HIP	ιππουρικό οξύ	0,4	υδρόλυση (Ιππουρικό οξύ)	NIN / περιμένετε 10 λεπτά			
				Άχρωμο/Απαλό κυανό Κυανό-γκρίζο		Σκούρο κυανό/Βιολετί	
ESC	εσκουλίνη κιτρικό τρινάτριο	1,16 0,152	υδρόλυση β-γλυκοζιδάσης (Εσκουλίνη)	4 ώρες	24 ώρες	4 ώρες	24 ώρες
				Άχρωμο Απαλό κίτρινο	Άχρωμο Απαλό κίτρινο Ανοιχτό γκρίζο	Μαύρο Γκρίζο	Μαύρο
PYRA	πυρογλουταμινικό οξύ-β-ναφθυλαμίδιο	0,0256	Πυρολιδονυλ Αρυλαμιδάση	ZYM A + ZYM B / 10 λεπτά (PYRA έως LAP) (1) αν είναι απαραίτητο, αποχρωματίστε με έντονο φως			
				Άχρωμο ή πολύ απαλό πορτοκαλί		Πορτοκαλί	
αGAL	6-βρωμο-2-ναφθυλ-αD-γαλακτοπυρανοζίδη	0,0376	α-Γαλακτοζιδάση	Άχρωμο		Βιολετί	
βGUR	ναφθόλη ASBI-γλυκουρονικό οξύ	0,0537	β-Γλυκουρονιδάση	Άχρωμο		Κυανό	
βGAL	2-ναφθυλ-βD-γαλακτοπυρανοζίδη	0,0306	β-Γαλακτοζιδάση	Άχρωμο ή Πολύ απαλό βιολετί		Βιολετί	
PAL	2-naphthyl phosphate	0,0244	Αλκαλική Φωσφατάση	Άχρωμο ή Πολύ απαλό βιολετί		Βιολετί	
LAP	L-λευκίνη-β-ναφθυλαμίδιο	0,0256	Λευκίνη Αμινοπεπτιδάση	Άχρωμο		Πορτοκαλί	
ADH	L-αργινίνη	1,9	Διϋδρολάση της Αργινίνης	Κίτρινο		Ερυθρό	
				4 ώρες	24 ώρες	4 ώρες	24 ώρες
RIB	D-ριβόζη	1,4	οξίνιση (Ριβόζη)	Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Ερυθρό	Πορτοκαλί / Κίτρινο	Κίτρινο
ARA	L-αραβινόζη	1,4	οξίνιση (Αραβινόζη)	Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Κίτρινο	Κίτρινο
MAN	D-μαννιτόλη	1,36	οξίνιση (Μαννιτόλη)	Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Κίτρινο	Κίτρινο
SOR	D-σορβιτόλη	1,36	οξίνιση (Σορβιτόλη)	Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Κίτρινο	Κίτρινο
LAC	D-λακτόζη (βόειος προέλευση)	1,4	οξίνιση (Λακτόζη)	Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Κίτρινο	Κίτρινο
TRE	D-τρεαλόζη	1,32	οξίνιση (Τρεαλόζη)	Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Κίτρινο	Κίτρινο
INU	ινουλίνη	5,12	οξίνιση (Ινουλίνη)	Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Κίτρινο	Κίτρινο
RAF	D-ραφινόζη	3,12	οξίνιση (Ραφινόζη)	Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Κίτρινο	Κίτρινο
AMD	άμυλο (2)	2,56	οξίνιση (Αμιδόνη)	Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Ερυθρό	Πορτοκαλί/ Κίτρινο	Κίτρινο
GLYG	γλυκογόνο	1,28	οξίνιση (Γλυκογόνο)	Ερυθρό ή Πορτοκαλί		Έντονο κίτρινο	

(1) Κατά τη διάρκεια μιας δεύτερης ανάγνωσης μετά από 24 ώρες επώασης, ένα ίζημα μπορεί να παρατηρηθεί στα σωληνάρια όπου τα αντιδραστήρια ZYM A και ZYM B έχουν προστεθεί. Το φαινόμενο αυτό είναι φυσιολογικό και δεν θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη.

(2) Η οξίνιση του αμύλου είναι συχνά πιο αδύναμη από την οξίνιση άλλων σακχάρων.

(3) Η εμφάνιση απαλού ρόδινο χρώματος που προέκυψε μετά από 10 λεπτά πρέπει να θεωρείται αρνητική.

- Οι αναγραφόμενες ποσότητες μπορούν να ρυθμίζονται ανάλογα με τον τίτλο των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται.
- Ορισμένα κυπέλια περιέχουν προϊόντα ζωικής προέλευσης, ειδικά πεπτόνες.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ
ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

σελ. I
σελ. II

ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

σελ. III
σελ. IV

Η ονομασία BIOMERIEUX, ο κυανός λογότυπος, οι ονομασίες API και **apiweb** αποτελούν χρησιμοποιημένα, κατατεθειμένα ή/και καταχωρημένα εμπορικά σήματα που ανήκουν στη bioMérieux SA ή μια εκ των θυγατρικών της.

Η ονομασία CLSI είναι εμπορικό σήμα που ανήκει στην Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Η ονομασία ATCC αποτελεί εμπορικό σήμα που ανήκει στην American Type Culture Collection.

Οποιαδήποτε άλλη ονομασία ή εμπορικό σήμα είναι ιδιοκτησία του αντίστοιχου ιδιοκτήτη.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Εκτυπώθηκε στη Γαλλία



Identifieringssystem för *Streptococcaceae* och närbesläktade organismer

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

API 20 Strep är ett standardiserat system som kombinerar 20 biokemiska tester som ger omfattande möjligheter. Det möjliggör grupp- eller artidentifiering av de flesta streptokocker och enterokocker, samt de vanligaste närbesläktade organismerna. En fullständig lista över de organismer som är möjliga att identifiera med hjälp av detta system återfinns i Identifieringstabellen, i slutet av denna bipacksedel.

METOD

API 20 Strep-strips består av 20 mikrobrunnar innehållande dehydrerade substrat för att påvisa enzymatisk aktivitet eller jäsning av socker.

De enzymatiska testerna inokuleras med en koncentrerad suspension av organismer, från renkultur, vilken rekonstituerar enzymsubstraten. Under inkubationen frambringas metaboliska färgförändringar som antingen uppträder spontant eller framkallas genom tillsats av reagenser.

Jäsningstesterna inokuleras med ett berikat medium som rehydrerar sockersubstraten. Jäsning av kolhydrater detekteras genom omslag i pH-indikatorn.

Reaktionerna avläses i enlighet med Avläsningstabellen och identifiering görs med hjälp av Analytical Profile Index, eller med hjälp av programvaran för identifiering.

KITETS INNEHÅLL (Kit för 25 tester)

- 25 API 20 Strep strips
- 25 inkubationsboxar
- 25 ampuller med API GP Medium
- 25 rapportblad
- 1 bipacksedel

INNEHÅLLSDEKLARATION

Stripset

API 20 Strep-stripsets innehåll framgår av Avläsningstabellen i denna bipacksedel.

Medium

API GP Medium 2 ml	L-cystin	0,5 g
	Trypton (av nöt/svin)	20 g
	Natriumklorid	5 g
	Natriumsulfit	0,5 g
	Fenolrött	0,17 g
	Avmineraliserat vatten	upp till 1000 ml
	pH : 7,4 – 7,6	

Den angivna mängden kan justeras beroende på titern hos de använda råmaterialen.

REAGENSER OCH NÖDVÄNDIGT MATERIAL (SOM INTE MEDFÖLJER)

Reagenser/Instrument

- API® Suspensionsmedium, 2 ml. (Art.nr. 70 700)
- Reagenser: NIN (Art.nr. 70 491)
 - VP 1 + VP 2 (Art.nr. 70 422)
 - ZYM A (Art.nr. 70 494)
 - ZYM B (Art.nr. 70 493)
- Mineralolja (Art.nr. 70 100)
- McFarland Standard (Art.nr. 70 900) nr 4 på skalan eller DENSIMAT (Art.nr. 99 234)
- API 20 Strep Analytical Profile Index (Art.nr. 20 690) eller **apiweb™** programvara för identifiering (Art. nr. 40 011) (kontakta bioMérieux)
- Columbia blodagar plattor (Art.nr. 43 041)
- Schaedler buljong (valfritt)

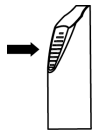
Material

- Provtagningspinnar
- Pipetter eller PSIpettes
- Ampullställ
- Ampullskydd
- Anaerobt kärl
- Allmän utrustning för mikrobiologiskt laboratorium

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Används för *in vitro*-diagnostik och mikrobiologisk kontroll.
- Endast för professionell användning.
- Detta kit innehåller produkter av animaliskt ursprung. Certifierade data angående ursprunget och/eller hälsotillståndet hos djuren garanterar inte total frånvaro av överförbara patogena agens. Vi rekommenderar därför att dessa produkter behandlas som potentiellt infektiösa och handhas enligt sedvanliga försiktighetsåtgärder (ska inte förtäras eller inandas).
- Alla prover, odlingar av mikroorganismer och inokulerade produkter skall anses infektiösa och behandlas på ett lämpligt sätt. Sterilteknik och vanliga försiktighetsåtgärder för att handha den speciella gruppen av bakterier skall iaktas under hela proceduren. Se "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Aktuell revidering*". För ytterligare information angående försiktighetsåtgärder vid hantering, se "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – Senaste upplagan", eller de f.n. gällande reglerna i det aktuella landet.
- Använd inte reagenser efter sista förbrukningsdatum.
- Kontrollera före användning att förpackning och komponenter är intakta.
- Använd inte strips som har blivit skadade: med deformerade kupoler, öppen torkmedelspåse etc.
- Då en ny ampull med ZYM B reagens öppnas rekommenderas att ett test för kvalitetskontroll utförs.

- Öppna ampullerna försiktigt enligt följande:
 - Placera ampullen i ampullskyddet.
 - Håll den skyddade ampullen i vertikal position med en hand (det vita plastlocket uppåt).
 - Tryck ner locket så långt som möjligt.
 - Placera tumspetsen på den räfflade delen av locket och pressa framåt för att bryta av ampulltoppen.
 - Ta ut ampullen från ampullskyddet och lägg skyddet åt sidan för senare användning.
 - Ta försiktigt av locket.
- Data angående prestanda som presenterats har erhållits med hjälp av den metod som anges i denna bipacksedel. Varje ändring i utförandet kan påverka resultaten.
- Tolkningen av testresultaten skall göras med hänsyn till patientens anamnes, provkällan, kolonial och mikroskopisk morfologi hos stammen och, om nödvändigt, resultaten av andra utförda tester, speciellt antibiotikakänslighet.



FÖRVARING

Strips och medier bör förvaras vid 2-8°C fram till sista förbrukningsdatum som anges på förpackningen.

PROVER (INSAMLING OCH PREPARERING)

API 20 Strep är inte avsett för direkt användning med kliniska eller andra prover.

Mikroorganismerna som ska identifieras måste först isoleras på ett lämpligt medium i enlighet med standardiserade mikrobiologiska tekniker.

BRUKSANVISNING

Val av kolonier

När mikroorganismen som ska identifieras har isolerats och verifierats som medlem i familjen *Streptococcaceae* (Gram-, katalastest):

- Anteckna typ av hemolys på rapportbladet (21:a testet).
- Plocka en välisolerad koloni (OBS 1) och suspendera den i 0,3 ml sterilt vatten. Homogenisera väl.
- Flöda en Columbia fårblodsagarplatta (OBS 2) med denna lösning (eller gör ett sterilt utstryk på hela agarytan).
- Inkubera plattan i 24 timmar (± 2 timmar) vid 36°C ± 2 °C under anaeroba förhållanden.

OBS 1: β -hemolytiska streptokocker och enterokocker bildar tillräckligt stora kolonier efter 24 timmars inkubation. För andra streptokocker är det fördelaktigt att välja ut en koloni efter 48 timmars inkubation. För krävande stammar (bildar minimala kolonier efter 48 timmars inkubation) rekommenderas följande procedur:

- Odlas kolonin i 1 ml Schaedler buljong vid 36°C ± 2 °C i 5 timmar.
- Flöda en Columbia fårblodsagarplatta med hela kulturen. Avlägsna överflödigt vätska.
- Inkubera plattan i 18-24 timmar vid 36°C ± 2 °C under anaeroba förhållanden.

OBS 2: Vid misstanke om pneumokocker bör 2 agarplattor prepareras för att erhålla tillräcklig tillväxt.

Preparering av stripset

- Gör i ordning en inkubationsbox (platta och lock) och fördela ca 5 ml destillerat vatten eller avmineraliserat vatten [eller annat vatten utan tillsatser och kemikalier som kan utveckla gaser (t.ex. Cl₂, CO₂, etc.)] till håligheterna på plattan för att skapa en fuktig atmosfär.
- Anteckna stambeteckningen på den förlängda fliken på plattan. (Anteckna inte beteckningen på locket eftersom det kan komma att förläggas under arbetet).
- Ta ut stripset ur dess förpackning.
- Placera stripset i inkubationsboxen.

Preparering av inokulatet

- Öppna ampullen med API Suspension Medium (2 ml) som anvisat i avsnittet "Försiktighetsåtgärder" eller använd ett annat rör innehållande 2 ml destillerat vatten utan tillsatser.
- Använd en bomullstopp och skörda hela kulturen från den tidigare preparerade subkulturplattan.
- Bered en koncentrerad lösning med **turbiditet högre än 4 McFarland**. Suspensionen måste användas direkt efter beredning.

Inokulering av stripset

- Fördela suspensionen på första halvan av stripset (VP till ADH testerna), undvik att det bildas bubblor (luta stripset lite framåt och placera spetsen på pipetten eller PSipetten mot sidan av kupolen):
 - För testerna VP till LAP: fördela ca 100 μ l till varje kupol.
 - För ADH testet: fyll endast brunnen.
- För andra halvan av stripset (testerna RIB till GLYG):
 - Öppna en ampull API GP Medium som anvisat i stycket "Försiktighetsåtgärder" och överför resten av lösningen till ampullen (ca 0,5 ml). Blanda väl.
 - Den nya suspensionen fördelas endast till brunnarna.
- Fyll kupolerna till de understrukna testerna (ADH till GLYG) med mineralolja tills det att det bildas en konvex yta.
- Placera locket på plattan.
- Inkubera vid 36°C ± 2 °C under aeroba förhållanden i 4 - 4 ½ timmar för att erhålla en första avläsning och i 24 timmar (± 2 timmar) för att göra en andra avläsning, om det är nödvändigt.

AVLÄSNING OCH TOLKNING

Avläsning av stripset

Efter 4 timmars inkubation:

- Tillsätt reagenserna:
 - VP test: 1 droppe av både VP 1 och VP 2.
 - HIP test: 2 droppar NIN.
 - PYRA-, α GAL-, β GUR-, β GAL-, PAL- och LAP-tester: 1 droppe av både ZYM A och ZYM B (*).
- (* **Det rekommenderas** att varje ampull med ZYM B **kontrolleras** innan den används för första gången. För att, i avsikt att eliminera eventuellt defekt reagens, göra denna kontroll är **stammen ATCC® 700400** att föredra enligt avsnittet Kvalitetskontroll.
- Vänta 10 minuter och avläs sedan reaktionerna enligt Avläsningstabellen. Om det är nödvändigt, utsätt stripset för starkt ljus (10 sekunder med 1000 W lamp) för att avfärga eventuellt reagensöverskott i brunnarna PYRA till LAP.

Återinkubera i följande fall:

- Låg diskriminering;
- Oacceptabel eller osäker profil;
- Om profilen anges med följande notering:

IDENTIFIERING OGILTIG
FÖRE 24 TIMMARS INKUBATION

I så fall, läs om reaktionerna ESC, ADH, och RIB till GLYG efter 24 timmar. **Avläs inte de enzymatiska reaktionerna igen** (HIP, PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP) och VP. Anteckna resultaten på rapportbladet.

Tolkning

Identifieringen görs med den **numeriska profilen**.

- Bestämning av den numeriska profilen:
På rapportbladet delas testet upp i grupper om tre, varpå varje grupp tilldelas ett talvärde: 1, 2 eller 4. Genom att addera de värden som motsvarar positiva reaktioner inom varje grupp, erhålls en 7-siffrig numerisk profil.

Identifiering:

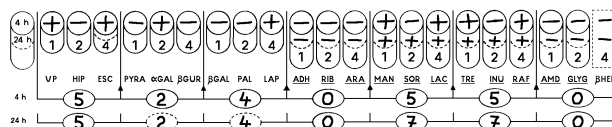
Denna utförs med hjälp av databasen (V7.0)

* med Analytical Profile Index:

- Leta upp den numeriska profilen i listan över profiler.

* med **apiweb™** identifieringsprogrammet:

- Skriv in den 7-siffriga numeriska profilen manuellt via tangentbordet.



5 240 550 / 5 240 770 Streptococcus mutans

OBS: Den hemolytiska reaktionen utgör det 21:a testet. β -hemolys anses som positiv med ett numeriskt värde på 4. Alla andra hemolytiska reaktioner anses som negativa med ett numeriskt värde på 0. Inte desto mindre kan detta test vara särskiljande vid identifieringen av vissa arter.

KVALITETSKONTROLL

Medier, strips och reagenser är systematiskt kvalitetskontrollerade vid olika steg i tillverkningen.

Rationaliserad kvalitetskontroll (**Streamlined quality control**) kan tillämpas för att bekräfta att API 20 Strep-systemet har en acceptabel prestanda efter leverans/lagerhållning. Denna metod kan utföras genom att följa instruktionerna ovan för att testa och uppfylla kriterierna i CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Testning kan utföras med hjälp av **Streptococcus equi spp zoepidemicus ATCC® 700400** för att utvärdera prestandan hos ARA-testet. Tester utförda av bioMérieux har visat att ARA-testet är den mest labila på API 20 Strep-stripset. När stripset skall testas kan *Streptococcus equi* spp *zoepidemicus* ATCC 700400 användas för att detektera degradering.

För de användare som behöver utföra **omfattande tester för kvalitetskontroll** av stripset bör följande två stammar testas för att påvisa positiv och negativ reaktivitet hos de flesta av API 20 Strep-testerna.

1. *Streptococcus equi* spp *zoepidemicus* ATCC 700400
2. *Streptococcus uberis* ATCC 700407

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

* Detta resultat kan variera beroende på odlingsmediet som används.

- Inokulatet är anpassat till mellan 4,5 och 5,5 McF med hjälp av DENSIMAT.
- Profiler som erhöles efter : - 4 timmars inkubation för testerna VP till LAP
- 24 timmars inkubation för testerna ADH till GLYG.
- Stammar odlade på Columbia fårblodsagar.

Det är användarens ansvar att utföra kvalitetskontroll i enlighet med de lokalt tillämpade bestämmelserna.

METODENS BEGRÄNSNINGAR

- API 20 Strep är ett system som endast är avsett för identifieringen av de arter som ingår i databasen (se Identifieringstabellen i slutet av denna bipacksedel). Det kan inte användas för identifiering av andra mikroorganism eller för att utesluta deras närvaro.
- Vissa stammar av *Streptococcus porcinus* kan identifieras som *Streptococcus agalactiae*.
- Endast rena kulturer från en enda organism bör användas.

FÖRVÄNTADE RESULTAT

Intervall för de förväntade resultaten för de olika biokemiska reaktionerna framgår av Identifieringstabellen i slutet av denna bipacksedel.

PRESTANDA

- Efter 4 timmars inkubation :
2336 kommersiellt tillgängliga stammar och stammar av olika ursprung tillhörande arter inkluderade i databasen testades:
 - 87,9 % av stammarna blev korrekt identifierade (med eller utan kompletterande tester).
 - 5,7 % av stammarna identifierades inte.
 - 6,4 % av stammarna blev felidentifierade.

- Efter 24 timmars inkubation :

3782 kommersiellt tillgängliga stammar och stammar av olika ursprung tillhörande arter inkluderade i databasen testades:

- 93,4% av stammarna blev korrekt identifierade (med eller utan kompletterande tester).
- 3,2% av stammarna identifierades inte.
- 3,4% av stammarna blev felidentifierade.

AVFALLSHANTERING

Avfallshantering av använda eller oanvända reagenser, liksom av andra kontaminerade engångsmaterial ska ske i enlighet med procedurer för infektiösa eller potentiellt infektiösa produkter.

Det är varje laboratoriums ansvar att handha avfalls- och avloppsprodukter efter typ och farlighetsgrad och behandla och avlägsna dem (eller få dem behandlade och avlägsnade) i enlighet med alla tillämpliga föreskrifter.

AVLÄSNINGSTABELL

TEST	AKTIVA INGREDIENSER	MGD (mg/kup.)	REAKTIONER/ENZYMER	RESULTAT			
				NEGATIVT		POSITIVT	
VP	Natriumpyruvat	1,9	acetoinbildning (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / vänta 10 min (3)			
				Färglös		Rosa-Röd	
HIP	hippursyra	0,4	hydrolys (HIPpursyra)	NIN / vänta 10 min			
				Färglös/Svagt blå Blåaktig-grå		Mörkblå/Violett	
ESC	esculin järncitrat	1,16 0,152	β-glucosidashydrolys (ESCulin)	4 timmar	24 timmar	4 timmar	24 timmar
				Färglös Svagt gul	Färglös Svagt gul Ljusgrå	Svart Grå	Svart
PYRA	pyroglutaminsyra- β-naftylamid	0,0256	PYRroidonylArylamidas	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA till LAP) (1) om nödvändigt, avfärga med starkt ljus			
				Färglös eller Mycket svagt orange		Orange	
αGAL	6-bromo-2-naftyl- αD-galaktopyranosid	0,0376	α-GALaktosidas	Färglös		Violett	
βGUR	naftol ASBI- glukuronsyra	0,0537	β-GIUkuRonidas	Färglös		Blå	
βGAL	2-naftyl- βD-galaktopyranosid	0,0306	β-GALaktosidas	Färglös eller Mycket svagt violett		Violett	
PAL	2-naftylfosfat	0,0244	ALKalisk fosfatas	Färglös eller Mycket svagt violett		Violett	
LAP	L-leucin-β-naftylamid	0,0256	Leucine AminoPeptidas	Färglös		Orange	
ADH	L-arginin	1,9	Arginin DiHydrolas	Gul		Röd	
				4 timmar	24 timmar	4 timmar	24 timmar
RIB	D-ribos	1,4	surgörning (RIBos)	Röd	Orange/ Röd	Orange/ Gul	Gul
ARA	L-arabinos	1,4	surgörning (ARAbinos)	Röd	Orange/ Röd	Orange/ Gul	Gul
MAN	D-mannitol	1,36	surgörning (MANnitol)	Röd	Orange/ Röd	Orange/ Gul	Gul
SOR	D-sorbitol	1,36	surgörning (SORbitol)	Röd	Orange/ Röd	Orange/ Gul	Gul
LAC	D-laktos (av nöt)	1,4	surgörning (LAKtos)	Röd	Orange/ Röd	Orange/ Gul	Gul
TRE	D-trehalos	1,32	surgörning (TREhalos)	Röd	Orange/ Röd	Orange/ Gul	Gul
INU	inulin	5,12	surgörning (INULin)	Röd	Orange/ Röd	Orange/ Gul	Gul
RAF	D-raffinios	3,12	surgörning (RAFFinos)	Röd	Orange/ Röd	Orange/ Gul	Gul
AMD	stärkelse (2)	2,56	surgörning (RAFFinos)	Röd	Orange/ Röd	Orange/ /Gul	Gul
GLYG	glykogen	1,28	surgörning (GLYkoGen)	Röd eller Orange		Klargul	

(1) Under en andra avläsning efter 24 timmars inkubation kan en avlagring upptäckas i brunnarna där ZYM A och ZYM B reagenserna blivit tillsatta. Det är normalt och skall inte tas i beaktande.

(2) Surgörningen av stärkelse är ofta svagare än hos andra kolhydrater.

(3) En svagt rosa färg som erhålls efter 10 minuter skall anses som negativ.

- Den angivna mängden kan justeras beroende på titern hos de använda råmaterialen.
- Vissa kupoler innehåller produkter av animaliskt ursprung, i synnerhet peptoner.

METOD

IDENTIFIERINGSTABELL

s. I

s. II

REFERENLITTERATUR

SYMBOLER

s. III

s. IV

BIOMERIEUX, den blå logotypen, API and **apiweb** är patentsökta och/eller registrerade varumärken som tillhör och används av bioMérieux SA eller något av dess dotterbolag.

CLSI är ett varumärke som tillhör Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

ATCC är ett varumärke som tillhör is American Type Culture Collection.

Alla övriga namn eller varumärken tillhör dess respektive ägare.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Tryckt i Frankrike



Identifikationssystem for *Streptococcaceae* og relaterede organismer

RESUMÉ OG FORKLARING

API 20 Strep er et standardiseret system, som kombinerer 20 biokemiske tests med vidtrækkende muligheder. Det muliggør identifikation af grupper eller species for de fleste streptokokker og enterokokker og de mest almindeligt forekommende relaterede organismer. Den komplette fortegnelse over de organismer, som kan identificeres med dette system, findes i identifikationstabellen nederst på denne indlægsseddel.

PRINCIP

API 20 Strep strip'en består af 20 mikrorør, der indeholder dehydrerede substrater til påvisning af enzymatisk aktivitet eller fermentation af sukker.

De enzymatiske tests inokuleres med en tæt opslæmning af organismer fremstillet af renkultur, som anvendes til at rekonstituere de enzymatiske substrater. Under inkubationen danner metabolismen farveforandringer, der enten sker spontant eller afsløres ved tilsætning af reagenser.

Fermentationstests inokuleres med et beriget medium, som rehydrerer suktersubstraterne. Fermentation af kulhydrater detekteres ved en ændring i pH-indikatoren. Reaktionen aflæses i henhold til aflæsningstabellen, og identifikationen opnås ved opslag i det analytiske profiindeks eller ved anvendelse af identifikations-softwaren.

KITTETS INDHOLD (KIT TIL 25 PRØVER)

- 25 API 20 Strep strips
- 25 inkubationsæsker
- 25 ampuller med API GP Medium
- 25 resultatark
- 1 indlægsseddel

SAMMENSÆTNING

Strip

Sammensætningen af API 20 Strep strip'en er angivet i aflæsningstabellen på denne indlægsseddel.

Medium

API GP Medium 2 ml	L-cystin	0,5 g
	Trypton (okse-/svine-oprindelse)	20 g
	Natriumklorid	5 g
	Natriumsulfit	0,5 g
	Fenolrødt	0,17 g
	Demineraliseret vand	til ialt 1000 ml
	pH : 7.4 - 7.6	

De angivne mængder kan justeres, afhængigt af titeren for de anvendte råmaterialer.

NØDVENDIGE MEN IKKE MEDFØLGENDE REAGENSER OG MATERIALER

Reagenser / instrumenter

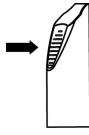
- API® Suspension Medium, 2 ml (Ref. 70 700)
- Reagenser: NIN (Ref. 70 491)
 - VP 1 + VP 2 (Ref. 70 422)
 - ZYM A (Ref. 70 494)
 - ZYM B (Ref. 70 493)
- En mineralisk olie (Ref. 70 100)
- McFarland Standard (Ref. 70 900) punkt 4 på skalaen eller DENSIMAT (Ref. 99 234)
- API 20 Strep Analytisk Profiindeks (Ref. 20 690) eller **apiweb™** identifikationssoftware (Ref. 40 011) (spørg bioMérieux)
- Columbia blodagarplader (Ref. 43 041)
- Schaedler bouillon (valgfrit)

Materiale

- Vatpinde
- Pipetter eller PSIpetter
- Ampulstativ
- Ampulbeskytter
- Anaerob beholder
- Almindeligt laboratorieudstyr til mikrobiologi

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- **Kun til *in vitro* diagnostisk anvendelse og mikrobiologisk kontrol.**
- **Kun til professionel brug.**
- Dette kit indeholder produkter af animalsk oprindelse. Certificeret kendskab til dyrenes oprindelse og/eller sundhedstilstand er ikke nogen fuldgældig garanti for, at der ikke er indeholdt nogen overførbare patogener stoffer. Det anbefales derfor, at disse produkter behandles som potentielt smittefarlige og håndteres under iagttagelse af de normale sikkerhedsforanstaltninger (må ikke indtages eller indåndes).
- Alle prøver, bakteriekulturer og podede produkter skal betragtes som smittefarlige og håndteres i overensstemmelse hermed. Der skal anvendes aseptisk teknik og sædvanlige forholdsregler for håndtering af den undersøgte bakteriekultur gennem hele denne procedure. Se venligst "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Gældende revision". For yderligere forsigtighedsforanstaltninger ved håndtering henvises til "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Seneste udgivelse", eller de bestemmelser, der aktuelt anvendes i det enkelte land.
- Reagenserne må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
- Kontrollér inden brug, at emballage og komponenter er intakte.
- Brug ikke strips, der er beskadiget: deformerede brønde, pose med tørremiddel åbnet, osv.
- Det anbefales at udføre en kvalitetskontroltest, når en ny ampul ZYM B reagens åbnes.

- Åbn forsigtigt ampullerne som følger:
 - Anbring ampullen i ampulbeskytteren.
 - Hold den beskyttede ampul i den ene hånd i lodret stilling (med den hvide plasthætte øverst).
- 
- Tryk hættens så langt ned som muligt.
 - Anbring spidsen af tommelfingeren på hættens rillede del og tryk udefter for at knække toppen af ampullen.
 - Tag ampullen ud af ampulbeskytteren og læg beskytteren til side til senere brug.
 - Tag forsigtigt hættens af.
- De fremlagte præstationsdata blev fundet ved anvendelse af den procedure, der er angivet på denne indlægsseddel. Enhver ændring eller modifikation af denne procedure kan påvirke resultaterne.
 - Ved fortolkning af testresultaterne skal der tages højde for patientens sygehistorie, prøvens kilde, koloniens og mikroskopiens morfologi for stammen samt om nødvendigt resultaterne af eventuelle andre udførte prøver, specielt de antibakterielle følsomhedsmønstre.

OPBEVARINGSFORHOLD

Strips og medier skal opbevares ved 2-8°C indtil den udløbsdato, der er angivet på emballagen.

PRØVER (OPSAMLING OG PRÆPARERING)

API 20 Strep må ikke bruges direkte sammen med kliniske eller andre prøver.

De mikroorganismer, der skal identificeres, skal først isoleres på et egnet dyrkningsmedium i overensstemmelse med mikrobiologiske standard teknikker.

BRUGSANVISNING

Udvælgelse af kolonier

Når den mikroorganisme, der skal identificeres, er blevet isoleret og verificeret som et medlem af familien *Streptococcaceae* (Gram, katalasetest) så :

- Notér hæmolysetypen på resultatarket (21. test).
- Udtag en velisoleret koloni (note 1) og suspendér den i 0,3 ml sterilt vand. Homogeniser den omhyggeligt.
- Overhæld en Columbia-fåreblodsagarplade (note 2) med denne suspension (eller opsaml aseptisk hele agarens overflade).
- Inkubér pladen i 24 timer (± 2 timer) ved $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ under anaerobe betingelser.

Note 1 : β -hæmolytiske streptokokker og enterokokker producerer tilstrækkeligt store kolonier efter 24 timers inkubation. For andre streptokokker er det tilrådeligt at selekttere en koloni efter 48 timers inkubation. For kræsne stammer (der producerer meget små kolonier efter 48 timer) anbefales følgende fremgangsmåde:

- Dyrk kolonien i 1 ml Schaedler kødafkog ved $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ i 5 timer.
- Overhæld en Columbia fåreblodsagarplade med hele kulturen. Fjern eventuel overskydende væske.
- Inkubér pladen i 18-24 timer ved $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ under anaerobe betingelser.

Note 2 : I tilfælde af mistanke om pneumokokker tilrådes det at præparere 2 agarplader for at opnå tilstrækkelig vækst.

Præparering af strip'en

- Præparer en inkubationsæske (skål og låg) og fordel cirka 5 ml destilleret eller demineraliseret vand [eller eventuelt vand uden tilsætningsstoffer eller kemikalier, der kan frigive gasser (f.eks. Cl_2 , CO_2 , etc.)] i bakkens fordybninger for at skabe en fugtig atmosfære.
- Notér stammereferencen på bakkens forlængede klap. (Notér ikke referencen på låget, da det kan blive flyttet under proceduren).
- Fjern strip'en fra dens individuelle pakning.
- Anbring strip'en i inkubationsæsken.

Præparering af inokulum

- Åbn en ampul med API Suspensionsmedium (2 ml) som angivet i afsnittet "Advarsler og forholdsregler" eller brug et andet rør med 2 ml destilleret vand uden tilsætninger.
- Benyt en vatpind til at høste hele kulturen fra den forpræparerede subkulturplade.
- Præparer en tæt opløsning med en **turbiditet på mere end 4 McFarland**. Denne suspension skal anvendes umiddelbart efter præpareringen.

Inokulation af strip'en

- Fordel denne suspension i den første halvdel af strip'en (test VP til ADH), og undgå, at der dannes bobler (vip strip'en let fremad og anbring spidsen af pipetten eller PSipetten mod siden af brønden) :
 - For tests VP til LAP : fordel cirka 100 μl i hver brønd.
 - For ADH testen : fyld kun røret.
- I den anden halvdel af strip'en (tests RIB til GLYG):
 - Åbn en ampul med API GP Medium som angivet i afsnittet "Advarsler og forholdsregler" og overfør resten af suspensionen til den (ca. 0,5 ml). Bland omhyggeligt.
 - Fordel denne nye suspension udelukkende i rørene.
- Fyld brønden i de understregte tests (ADH til GLYG) med mineralisk olie for at danne en konveks menisk.
- Sæt låget på skålen.
- Inkubér ved $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ under aerobe betingelser i 4 - 4 ½ time for at opnå en første aflæsning og i 24 timer (± 2 timer) for at opnå en ekstra aflæsning om nødvendigt.

AFLÆSNING OG FORTOLKNING

Aflæsning af strip

Efter 4 timers inkubation:

- tilsæt reagenserne:
 - VP-test : 1 dråbe af hvert af reagenserne VP 1 og VP 2.
 - HIP-test : 2 dråber NIN.
 - PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL og LAP tests : 1 dråbe af hvert af reagenserne ZYM A og ZYM B (*)
- (*) **Det anbefales at kontrollere** hver ampul ZYM B, inden den åbnes første gang. Til udførelse af en sådan kontrol anbefales det at bruge **stammen ATCC® 700400** nævnt i afsnittet om kvalitetskontrol for at eliminere defekte reagenser.
- Vent 10 minutter og aflæs derefter reaktionerne ved at referere til Aflæsningstabellen. Udsæt om nødvendigt strip'en for kraftigt lys (10 sekunder med en 1000 W lampe) for at affarve eventuelle overskydende reagenser i rørene PYRA til LAP.

Reinkubation er nødvendig ved følgende forhold:

- lav diskrimination,
- uacceptabel eller tvivlsom profil,
- eller hvis følgende bemærkning angives for profilen:

IDENTIFIKATION IKKE GYLDIG
FØR EFTER 24 TIMERS INKUBATION

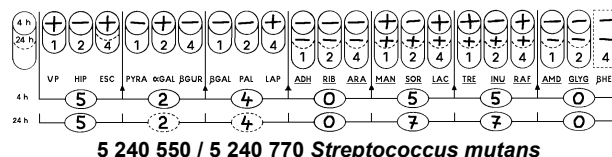
I så fald gen aflæses reaktionerne ESC, ADH og RIB til GLYG efter 24 timer. **Gen aflæs ikke de enzymatiske reaktioner** (HIP, PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP) og VP. Notér alle reaktioner på resultatarket.

Fortolkning

Identifikation opnås med den **numeriske profil**.

- Bestemmelse af den numeriske profil :
På resultatarket er testene opdelt i grupper på 3, og en værdi på 1,2 eller 4, er angivet for hver. Ved at addere de værdier, der svarer til positive reaktioner inden for hver gruppe, opnås et 7-cifret profilnummer.

- Identifikation :
Denne udføres ved hjælp af databasen (V7.0)
* med Analytisk Profilindeks :
- Slå den numeriske profil op i fortegnelsen over profiler.
* med **apiweb™** identifikationssoftwaren:
- Indtast den 7-cifrede numeriske profil manuelt via tastaturet.



BEMÆRK: Den hæmolytiske reaktion udgør den 21. test: β -hæmolyse betragtes som positiv ved en numerisk værdi på 4. Alle øvrige hæmolytiske reaktioner betragtes som negative med en numerisk værdi på 0. Alligevel kan denne test være af afgørende værdi for identifikation af visse species.

KVALITETSKONTROL

Medier, strips og reagenser kontrolleres systematisk på forskellige trin under fremstillingen.

En effektiv kvalitetskontrol kan anvendes til bekræftelse af acceptabel præstation af API 20 Strep systemet efter levering/opbevaring. Denne metodologi kan udføres ved at følge ovenstående instruktioner for testning og imødegåelse af kriterier angivet i CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Identification Systems.

Testning kan foretages med anvendelse af **Streptococcus equi spp zoepidemicus ATCC® 700400** til vurdering af præstationen af ARA testen. Tests udført af bioMérieux har vist, at ARA testen er den mest ustabile i API 20 Strep strip'en. Når strip'en testes, kan *Streptococcus equi* spp *zoepidemicus* ATCC 700400 anvendes til detektion af nedbrydning.

For de brugere, som skal udføre **omfattende kvalitetskontroltestning** af strip'en, er det bedst at anvende følgende to stammer til demonstration af positiv og negativ reaktivitet for de fleste API 20 Strep tests:

1. *Streptococcus equi* spp *zoepidemicus* ATCC 700400
2. *Streptococcus uberis* ATCC 700407

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

* Dette resultat kan variere afhængigt af det anvendte dyrkningsmedium.

- Inokulum justeret til mellem 4,5 og 5,5 McF med DENSIMAT.
- Profiler opnået efter:
 - 4 timers inkubation for tests VP til LAP
 - 24 timers inkubation for tests ADH til GLYG.
- Stammer dyrket på Columbia fåreblodsagar.

Det er brugerens ansvar at foretage kvalitetskontrol i overensstemmelse med lokalt gældende bestemmelser.

METODENS BEGRÆNSNINGER

- API 20 Strep-systemet er udelukkende beregnet til identifikation af de species, der er medtaget i databasen (se Identifikationstabel nederst på denne indlægsseddel). Det kan ikke benyttes til at identificere nogen andre mikroorganismer eller til at udelukke, at de er til stede.
- Visse stammer af *Streptococcus porcinus* kan identificeres som *Streptococcus agalactiae*.
- Der bør kun anvendes rene kulturer af en enkelt organisme.

FORVENTEDE RESULTATER

Se Identifikationsoversigten i slutningen af denne indlægsseddel for forventede resultater for de forskellige biokemiske reaktioner.

PRÆSTATIONER

- Efter 4 timers inkubation:
2336 kollektionsstammer og stammer af forskellig oprindelse, som hører til species, der er inkluderet i databasen, blev testet:
 - 87,9 % af stammerne blev korrekt identificeret (med eller uden supplerende tests).
 - 5,7 % af stammerne blev ikke identificeret.
 - 6,4 % af stammerne blev fejlidentificeret.

- Efter 24 timers inkubation:
3782 kollektionsstammer og stammer af forskellig oprindelse, som hører til species, der er inkluderet i databasen, blev testet:
 - 93,4 % af stammerne blev korrekt identificeret (med eller uden supplerende tests).
 - 3,2 % af stammerne blev ikke identificeret.
 - 3,4 % af stammerne blev fejlidentificeret.

BORTSKAFFELSE AF AFFALD

Bortskaf alle brugte eller ubrugte komponenter samt eventuelle andre kontaminerede materialer efter procedurer for infektiøse eller potentielt infektiøse produkter.

Det er ethvert laboratoriums ansvar at håndtere det affald og spildevand, der opstår, i overensstemmelse med dets type og grad af farlighed, og at behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i henhold til gældende forskrifter.

AFLÆSNINGSTABEL

TESTS	AKTIVE INDHOLDSSTOFFER	MÆNGDE (mg/brønd)	REAKTIONER/ENZYMER	RESULTATER			
				NEGATIVE		POSITIVE	
VP	natriumpyruvat	1,9	acetoindannelse (Voges-Proskauer)	VP 1 + VP 2 / vent 10 min. (3)			
				Farveløs		Lyserød-Rød	
HIP	hippursyre	0,4	hydrolyse (HIPpursyre)	NIN / vent 10 min.			
				Farveløs/Lyseblå blå-grå		Mørkeblå/Violet	
ESC	esculin ferricitrat	1,16 0,152	β-glukosidase hydrolyse (ESCulin)	4 tim.	24 tim.	4 tim.	24 tim.
				Farveløs Lysegul	Farveløs Lysegul Lysegrå	Sort Grå	Sort
PYRA	pyroglutaminsyre- β-naftylamid	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min. (PYRA til LAP) (1) affarv om nødvendigt med intenst lys			
				Farveløst eller meget lyst orange		Orange	
αGAL	6-brom-2-naftyl- αD-galaktopyranosid	0,0376	α-GALaktosidase	Farveløs		Violet	
βGUR	naftol ASBI- glukuronsyre	0,0537	β-GIUkuRonidase	Farveløs		Blå	
βGAL	2-naftyl- βD- galaktopyranosid	0,0306	β-GALaktosidase	Farveløst eller meget lyst violet		Violet	
PAL	2-naftylfosfat	0,0244	ALkalisk fosfatase	Farveløst eller meget lyst violet		Violet	
LAP	L-leucin-β-naftylamid	0,0256	Leucin AminoPeptidase	Farveløs		Orange	
ADH	L-arginin	1,9	Arginin DiHydrolase	Gul		Rød	
				4 tim.	24 tim.	4 tim.	24 tim.
RIB	D-ribose	1,4	acidifikation (RIBose)	Rød	Orange/ Rød	Orange/ Gul	Gul
ARA	L-arabinose	1,4	acidifikation (ARAbinose)	Rød	Orange/ Rød	Orange/ Gul	Gul
MAN	D-mannitol	1,36	acidifikation (MANnitol)	Rød	Orange/ Rød	Orange/ Gul	Gul
SOR	D-sorbitol	1,36	acidifikation (SORbitol)	Rød	Orange/ Rød	Orange/ Gul	Gul
LAC	D-LACTose (okse-oprindelse)	1,4	acidifikation (LACTose)	Rød	Orange/ Rød	Orange/ Gul	Gul
TRE	D-trehalose	1,32	acidifikation (TREhalose)	Rød	Orange/ Rød	Orange/ Gul	Gul
INU	inulin	5,12	acidifikation (INUlin)	Rød	Orange/ Rød	Orange/ Gul	Gul
RAF	D-raffinose	3,12	acidifikation (RAFFinose)	Rød	Orange/ Rød	Orange/ Gul	Gul
AMD	stivelse (2)	2,56	acidifikation (AmiDon)	Rød	Orange/ Rød	Orange/ Gul	Gul
GLYG	glykogen	1,28	acidifikation (GLYcoGen)	Rød eller Orange		Stærk gul	

(1) Under en ekstra aflæsning efter 24 timers inkubation kan der observeres en bundfældning i de rør, hvor der er tilsat ZYM A og ZYM B-reagenser. Dette fænomen er helt normalt og kræver ikke særlige foranstaltninger.

(2) Acidifikationen af stivelse er ofte svagere end for andre sukkerstoffer.

(3) En svagt lyserød opnået farve efter 10 minutter skal betragtes som negativ.

- De angivne mængder kan justeres, afhængigt af titeren for de anvendte råmaterialer.
- Visse brønde indeholder produkter af animalsk oprindelse, specielt peptoner.

METODE	p. I	LITTERATURHENVISNINGER	p. III
IDENTIFIKATIONSTABEL	p. II	SYMBOLFORTEGNELSE	p. IV

BIOMÉRIEUX, det blå logo, API og **apiweb** er anvendte, under registrering og/eller registrerede varemærker tilhørende bioMérieux SA eller et af dets datterselskaber.

CLSI er et varemærke tilhørende Clinical and Laboratory Standards Institute, Inc.

ATCC er et tilhørende American Type Culture Collection.

Alle andre handelsnavne eller varemærker er den respektive ejers ejendom.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Trykt i Frankrig



System do identyfikacji *Streptococcaceae* i drobnoustrojów spokrewnionych

WPROWADZENIE

System API 20 Strep jest wystandaryzowanym zestawem zawierającym 20 testów biochemicznych, który daje szerokie możliwości. Umożliwia on identyfikację grup lub gatunków większości paciorkowców i enterokoków oraz najbardziej powszechnych spokrewnionych drobnoustrojów. Pełna lista organizmów, które można zidentyfikować przy użyciu tego systemu jest podana na końcu niniejszej instrukcji w Tabeli Identyfikacyjnej.

ZASADA DZIAŁANIA

Pasek API 20 Strep składa się z 20 mikropróbówek zawierających odwodnione substraty umożliwiające ocenę aktywności enzymatycznej lub fermentacji cukrów.

Testy enzymatyczne posiewa się gęstą zawiesiną drobnoustrojów, odtwarzającą substraty enzymatyczne, przygotowaną z czystej hodowli. Procesy metaboliczne zachodzące podczas inkubacji powodują zmiany koloru, które są albo spontaniczne, lub wywołane przez dodanie odczynników.

Testy fermentacyjne posiewa się podłożem wzbogaconym, które uwadnia substraty cukrowe. Fermentacja węglowodanów jest wykrywana dzięki zmianom barwy wskaźników pH.

Po odczytaniu reakcji według Tabeli Odczytów, otrzymuje się identyfikację przez porównanie z Książką Kodów lub stosując program komputerowy.

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU (Zestaw na 25 testów)

- 25 pasków API 20 Strep
- 25 komór inkubacyjnych
- 25 ampulek API GP Medium
- 25 kart wyników
- 1 instrukcja

SKŁAD

Pasek

Skład paska API 20 Strep podano w tej instrukcji w Tabeli Odczytów.

Podłoże

API GP Medium 2 ml	L-cystyna	0.5 g
	Trypton (wołowy/wieprzowy)	20 g
	Chlorek sodu	5 g
	Siarczyn sodu	0.5 g
	Czerwień fenolowa	0.17 g
	Woda demineralizowana	do 1000 ml
	pH : 7.4 - 7.6	

Wskazane stężenia mogą być regulowane w zależności od miana użytego surowego materiału.

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU

Odczynniki / Aparatura

- API® Suspension Medium, 2 ml (Ref. 70 700)
- Odczynniki : NIN (Ref. 70 491)
VP 1 + VP 2 (Ref. 70 422)
ZYM A (Ref. 70 494)
ZYM B (Ref. 70 493)
- Olej mineralny (Ref. 70 100)
- Standard McFarlanda (Ref. 70 900) punkt 4 w/g skali lub w DENSIMACIE (Ref. 99 234)
- Książka Kodów dla API 20 Strep (Ref. 20 690) lub oprogramowanie komputerowe do identyfikacji **apiweb™** (Ref. 40 011) (skontaktuj się z bioMérieux)
- Płytki z agarem Columbia z krwią (Ref. 43 041)
- Bulion Schaedlera (nie obowiązkowo)

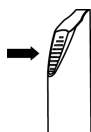
Materiały

- Wymazówek
- Pipety lub PSlpety
- Osłona na ampulkę
- Statyw do ampulek
- Pojemnik do hodowli beztlenowców
- Wyposażenie zazwyczaj stosowane w laboratorium mikrobiologicznym

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Do diagnostyki *in vitro* i kontroli mikrobiologicznej.
- Do wykorzystania wyłącznie przez profesjonalistów.
- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadczenie pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego należy obchodzić się z nim zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki pobrane od pacjentów, hodowle bakteryjne i wykorzystane produkty są potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane zgodnie z zalecanymi środkami ostrożności. Należy stosować techniki aseptyczne i zwykle procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – Bieżąca wersja". Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories CDC/NIH – Ostatnie wydanie", lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.
- Nie używać odczynników przeterminowanych.
- Przed użyciem sprawdzić, czy opakowania poszczególnych składników są nienaruszone.
- Nie używać pasków uszkodzonych : odkształcone studzienki, otwarta saszetka ze środkiem odwadniającym, itd.
- Po otwarciu nowej ampułki odczynnika ZYM B należy przeprowadzić kontrolę jakości.

- Ampułki otwierać ostrożnie w następujący sposób:
 - Umieścić ampulkę w osłonie.
 - Trzymać osłoniętą ampulkę w jednej ręce w pozycji pionowej (białą plastikową nasadką do góry).
 - Wcisnąć nasadkę do dołu tak daleko jak to możliwe.
 - Umieścić kciuk na wyżłobionej części nasadki i nacisnąć od siebie tak, aby odłamać końcówkę ampułki znajdującą się wewnątrz nasadki.
 - Wyjąć ampulkę z osłony, którą należy odłożyć do kolejnego użycia.
 - Ostrożnie zdjąć nasadkę.
- W celu osiągnięcia odpowiednich wyników należy stosować procedurę zawartą w opakowaniu. Każda modyfikacja procedury może wpływać na wyniki.
- W interpretacji wyników testu należy wziąć pod uwagę historię choroby pacjenta, miejsce pobrania materiału, makro- i mikroskopową morfologię oraz jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów, szczególnie lekowrażliwości.



PRZECHOWYWANIE

Paski i podłoża powinny być przechowywane w temperaturze 2-8°C do końca daty ważności podanej na opakowaniu.

MATERIAŁ DO BADAŃ (POBIERANIE I OPRACOWANIE)

Paski API 20 Strep nie są przeznaczone do bezpośrednich badań materiału klinicznego lub innych próbek.

Identyfikowany mikroorganizm musi być najpierw wyizolowany na podłożach hodowlanych zgodnie ze standardowymi technikami mikrobiologicznymi.

SPOSÓB WYKONANIA

Wybór kolonii bakteryjnych

Po wyizolowaniu mikroorganizmu, który ma być identyfikowany sprawdzić, czy należy on do rodziny *Streptococcaceae* (barwienie metodą Grama, test na katalazę):

- Zanotować typ hemolizy na karcie wyników (21. test).
- Pobrać dobrze wyizolowaną kolonię (Uwaga 1) i zawiesić ją w 0.3 ml jałowej wody. Dobrze wymieszać.
- Zalać tą zawiesiną płytkę z agarem Columbia z krwią baranią (Uwaga 2) (lub rozprowadzić jałową wymazówkę po powierzchni agaru).
- Inkubować płytkę przez 24 godziny (± 2 godziny) w 36°C \pm 2°C w warunkach beztlenowych.

UWAGA 1: Paciorkowce β -hemolizujące i enterokoki wytwarzają wystarczająco duże kolonie po 24 godzinach inkubacji. Dla innych paciorkowców zaleca się, aby wybierać kolonie po 48 godzinach inkubacji. Dla szczepów o wysokich wymaganiach odżywczych (wytwarzających drobne kolonie po 48 godzinach), zaleca się stosowanie następującej procedury:

- Nanieść kolonię do 1 ml bulionu Schaedlera i hodować w 36°C \pm 2°C przez 5 godzin.
- Zalać otrzymaną hodowlą płytkę z agarem Columbia z krwią baranią. Usunąć nadmiar płynu.
- Inkubować płytkę przez 18-24 godzin w 36°C \pm 2°C w warunkach beztlenowych.

UWAGA 2: W przypadku podejrzenia występowania pneumokoków, zaleca się przygotować 2 płytki agarowe, aby otrzymać wystarczający wzrost.

Przygotowanie paska

- Przygotować komorę inkubacyjną (podstawkę i pokrywkę) i nanieść około 5 ml destylowanej lub demineralizowanej wody [lub jakiegokolwiek wody bez dodatków lub związków chemicznych, z których mogą wydzielać się gazy (np. Cl₂, CO₂, itd.)] na podstawkę w kształcie plastra miodu, w celu wytworzenia komory wilgotnej.
- Zanotować numer szczepu na wydłużonej części podstawki. (Nie notować numeru na pokrywce, ponieważ może ona ulec zamianie w trakcie badań).
- Wyjąć pasek z indywidualnego opakowania.
- Umieścić pasek w komorze inkubacyjnej.

Przygotowanie inokulum

- Otworzyć ampulkę API Suspension Medium (2 ml) zgodnie z paragrafem "Środki ostrożności" lub użyć jakąkolwiek probówkę zawierającą 2 ml wody destylowanej bez dodatków.
- Używając wymazówkę zebrać wszystkie bakterie, które wyrosły na płytce z przygotowaną hodowlą wtórną.
- Przygotować gęstą zawiesinę o zmętnieniu odpowiadającym **gęstości przekraczającej 4 w skali McFarlanda**. Zawiesinę tę użyć natychmiast po sporządzeniu.

Napełnianie paska

- Zawiesinę tę nanieść do pierwszej części paska (testy od VP do ADH), unikając tworzenia pęcherzyków (nachylić lekko pasek do przodu i trzymać końcówkę pipety lub PSlpety przy ścianie wgłębienia):
 - Do testów od VP do LAP : nanieść po około 100 μ l do każdej mikroprobówki.
 - Dla testu ADH: napełnić wyłącznie probówkę.
- Dla drugiej części paska (testy od RIB do GLYG):
 - Otworzyć ampulkę API GP Medium zgodnie z paragrafem "Środki ostrożności" i przenieść do niej resztę zawiesiny (około 0.5 ml). Dobrze wymieszać.
 - Nanieść tę nową zawiesinę wyłącznie do probówek.
- Napełnić wgłębienia podkreślonych testów (od ADH do GLYG) olejem mineralnym, aby utworzył się menisk wypukły.
- Przykryć podstawkę pokrywką.
- Inkubować w 36°C \pm 2°C w warunkach tlenowych przez 4 - 4 ½ godziny, aby dokonać pierwszego odczytu i przez 24 godziny (± 2 godziny), aby dokonać drugiego odczytu, jeśli jest to konieczne.

ODCZYT I INTERPRETACJA

Odczyt paska

Po 4 godzinach inkubacji:

- Dodać odczynników:
 - Test VP : po 1 kropli VP 1 i VP 2.
 - Test HIP : 2 krople NIN.
 - Testy PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL i LAP : po 1 kropli ZYM A i ZYM B (*).
- (* **Zalecane jest przeprowadzenie kontroli** każdej ampułki ZYM B przed pierwszym użyciem.
- W celu eliminacji wadliwych odczynników należy użyć szczepu **ATCC® 700400** wskazanego w paragrafie Kontrola Jakości.
- Odczekać 10 minut, później odczytać wszystkie reakcje przez porównanie z Tabelą Odczytów. Jeśli to konieczne, wystawić pasek na działanie silnego światła (10 sekund pod lampą 1000 W), aby odbarwić nadmiar odczynników od PYRA do LAP.

Dalsza inkubacja jest konieczna w następujących przypadkach:

- niskiego rozróżnienia;
- profilu nie do zaakceptowania lub wątpliwego;
- jeśli profil jest podany z następującą uwagą:

IDENTYFIKACJA NIE DO ZATWIERDZENIA
PRZED UPŁYWEM 24 GODZIN INKUBACJI

W tym przypadku, po 24 godzinach, powtórnie odczytać reakcje ESC, ADH i od RIB do GLYG. **Nie odczytywać powtórnie reakcji enzymatycznych** (HIP, PYRA, αGAL, βGUR, βGAL, PAL, LAP) i VP. Zapisać wyniki wszystkich reakcji na karcie wyników.

Interpretacja

Identyfikację otrzymuje się z **profilu numerycznego**.

- Określanie profilu numerycznego:
Na karcie wyników testy podzielone są na grupy po 3, każdy odpowiednio o wartości 1, 2 lub 4. Przez dodanie do siebie wartości odpowiadających pozytywnym reakcjom w obrębie każdej grupy otrzymuje się 7 cyfrowy profil numeryczny.

• Identyfikacja:

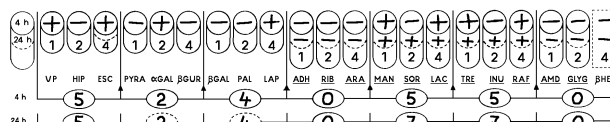
Uzyskuje się ją używając bazy danych (V7.0)

* z Książki Kodowej:

- Odszukać właściwy profil numeryczny na liście profili.

* z oprogramowania komputerowego **apiweb™**:

- Wprowadzić 7 cyfrowy profil numeryczny manualnie przy użyciu klawiatury.



5 240 550 / 5 240 770 Streptococcus mutans

UWAGA: Reakcja hemolizy stanowi 21. test; β-hemoliza jest uważana za wynik pozytywny z liczbową wartością równą 4. Inne wyniki reakcji hemolizy uważa się za ujemne z wartością liczbową 0. Niemniej jednak, test ten może mieć wartość rozstrzygającą dla identyfikacji niektórych gatunków.

KONTROLA JAKOŚCI

Podłoża, paski i odczynniki są systematycznie poddawane kontroli jakości na różnym poziomie procesu produkcji.

Do oceny systemu API 20 Strep po transporcie/magazynowaniu może być używana **Częściowa Kontrola Jakości**. Ta metodyka może być wykonywana według załączonych instrukcji badania w celu spełnienia kryteriów Kontroli Jakości dla komercyjnych systemów identyfikacji mikrobiologicznej CLSI® M50-A.

Do oceny testu ARA użyć można szczepu wzorcowego **Streptococcus equi spp zoepidemicus ATCC® 700400**. Badania prowadzone przez bioMérieux wykazały, że test ARA jest najmniej trwały w zestawie API 20 Strep. Szczepu *Streptococcus equi spp zoepidemicus* ATCC 700400 można używać do wykrycia rozkładu.

Dla użytkowników, którzy zobowiązani są prowadzić **Pełną Kontrolę Jakości** pasków zaleca się dwa następujące szczepy dla sprawdzenia dodatniej i ujemnej reaktywności większości testów zestawu API 20 Strep.

1. *Streptococcus equi spp zoepidemicus* ATCC 700400

2. *Streptococcus uberis*

ATCC 700407

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

	VP	HIP	ESC	PYRA	αGAL	βGUR	βGAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1.	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2.	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

* Wynik ten może się różnić w zależności od użytego podłoża.

- Odpowiednia gęstość inokulum wyznaczona przy użyciu DENSIMATU zawiera się między 4.5 a 5.5 McF.
- Profile otrzymane po:
 - 4 godzinach inkubacji dla testów od VP do LAP
 - 24 godzinach inkubacji dla testów od ADH do GLYG.
- Szczepy hodowane na agarze Columbia z krwią baranią.

Użytkownik jest zobowiązany do prowadzenia kontroli jakości zgodnie z lokalnymi przepisami.

OGRANICZENIA METODY

- System API 20 Strep służy jedynie do identyfikacji gatunków zawartych w bazie danych (patrz Tabela Identyfikacyjna na końcu instrukcji). Nie może być używany do identyfikacji innych mikroorganizmów lub wykluczania ich obecności.
- Niektóre szczepy *Streptococcus porcinus* mogą zostać zidentyfikowane jako *Streptococcus agalactiae*.
- Należy używać tylko czysto wyizolowanych bakterii.

ZAKRES SPODZIEWANYCH WYNIKÓW

W Tabeli Identyfikacyjnej na końcu instrukcji sprawdzić zakres spodziewanych wyników dla różnych testów biochemicznych.

OCENA TESTU

- Po 4 godzinach inkubacji:
Przebadano 2336 szczepów, z kolekcji i różnych źródeł, należących do gatunków zawartych w bazie danych:
 - 87,9 % szczepów prawidłowo zidentyfikowano (z lub bez testów uzupełniających).
 - 5,7 % szczepów nie zidentyfikowano.
 - 6,4 % zostało nieprawidłowo zidentyfikowanych.

- Po 24 godzinach inkubacji:

Przebadano 3782 szczepów, z kolekcji i różnych źródeł, należących do gatunków zawartych w bazie danych:

- 93,4 % szczepów prawidłowo zidentyfikowano (z lub bez testów uzupełniających).
- 3,2 % szczepów nie zidentyfikowano.
- 3,4 % zostało nieprawidłowo zidentyfikowanych.

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI

Zużytych i nieużytych odczynników, jak również zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych, należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekować je i usuwać (zlecić dezynfekcję i usuwanie) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

TABELA ODCZYTÓW

TEST	AKTYWNE SKŁADNIKI	STĘŻENIE (mg/probówka)	REAKCJE/ENZYMY	WYNIKI			
				NEGATYWNY		POZYTYWNY	
VP	pirosiarczan sodu	1,9	wytwarzanie acetoiny (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / odczekać 10 min (3)			
				Bezbarwny		Różowo-Czerwony	
HIP	kwask hipurowy	0,4	hydroliza (kwask hipurowy)	NIN / odczekać 10 min			
				Bezbarwny /Błado niebieski Niebieskawo-szary		Ciemno niebieski/Fioletowy	
ESC	eskulina cytrynian sodu	1,16 0,152	β-glukozydaza hydroliza (eskulina)	4 godz.	24 godz.	4 godz.	24 godz.
				Bezbarwny Błado żółty	Bezbarwny Błado żółty Jasno szary	Czarny Szary	Czarny
PYRA	β-naftyloamid kwasu piroglutaminowego	0,0256	arylamidaza pirolidonylu	ZYM A + ZYM B / 10 min (od PYRA do LAP) (1) Jeśli konieczne, odbarwić w silnym świetle			
				Bezbarwny lub Bardzo błado pomarańczowy		Pomarańczowy	
αGAL	6-bromo-2-naftylo- αD-galaktopiranozyd	0,0376	α-galaktozydaza	Bezbarwny		Fioletowy	
βGUR	naftol ASBI kwasu glukuronowego	0,0537	β-glukuronidaza	Bezbarwny		Niebieski	
βGAL	2-naftylo- βD-galaktopiranozyd	0,0306	β-galaktozydaza	Bezbarwny lub Bardzo błado fioletowy		Fioletowy	
PAL	2-naftylo fosforan	0,0244	fosfataza alkaliczna	Bezbarwny lub Bardzo błado fioletowy		Fioletowy	
LAP	L-leucyno- β-naftyloamid	0,0256	leucyno aminopeptydaza	Bezbarwny		Pomarańczowy	
ADH	L-arginina	1,9	dihydrolaza argininy	Żółty		Czerwony	
				4 godz.	24 godz.	4 godz.	24 godz.
RIB	D-ryboza	1,4	zakwaszenie (ryboza)	Czerwony	Pomarańczowy/ Czerwony	Pomarańczowy/ Żółty	Żółty
ARA	L-arabinoza	1,4	zakwaszenie (arabinoza)	Czerwony	Pomarańczowy/ Czerwony	Pomarańczowy/ Żółty	Żółty
MAN	D-mannitol	1,36	zakwaszenie (mannitol)	Czerwony	Pomarańczowy/ Czerwony	Pomarańczowy/ Żółty	Żółty
SOR	D-sorbitol	1,36	zakwaszenie (sorbitol)	Czerwony	Pomarańczowy/ Czerwony	Pomarańczowy/ Żółty	Żółty
LAC	D-laktoza (wołowa)	1,4	zakwaszenie (laktoza)	Czerwony	Pomarańczowy/ Czerwony	Pomarańczowy/ Żółty	Żółty
TRE	D-trehaloza	1,32	zakwaszenie (trehaloza)	Czerwony	Pomarańczowy/ Czerwony	Pomarańczowy/ Żółty	Żółty
INU	inulina	5,12	zakwaszenie (inulina)	Czerwony	Pomarańczowy/ Czerwony	Pomarańczowy/ Żółty	Żółty
RAF	D-rafinioza	3,12	zakwaszenie (rafinioza)	Czerwony	Pomarańczowy/ Czerwony	Pomarańczowy/ Żółty	Żółty
AMD	skrobia (2)	2,56	zakwaszenie (skrobia)	Czerwony	Pomarańczowy/ Czerwony	Pomarańczowy/ Żółty	Żółty
GLYG	glikogen	1,28	zakwaszenie (glikogen)	Czerwony lub Pomarańczowy		Jasno żółty	

(1) W trakcie drugiego odczytu po 24 godzinach inkubacji, może pojawiać się w probówkach osad po dodaniu odczynników ZYM A

i ZYM B. Jest to normalne zjawisko, które nie powinno być brane pod uwagę.

(2) Zakwaszenie skrobi jest często słabsze niż innych cukrów.

(3) Błado różowy kolor pojawiający się po 10 minutach należy uważać za wynik negatywny.

- Wskazane stężenia mogą być regulowane w zależności od miana użytego surowego materiału.
- Niektóre mikroprobówki zawierają produkty pochodzenia zwierzęcego, zwłaszcza peptony.

METODYKA

TABELA IDENTYFIKACYJNA

str. I

str. II

PIŚMIENICTWO

TABELA SYMBOLI

str. III

str. IV

BIOMERIEUX, i jego niebieskie logo, API i **apiweb** są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącym do bioMérieux SA lub jednego z przedstawicieli.

CLSI jest znakiem towarowym należącym do Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

ATCC jest znakiem towarowym należącym do American Type Culture Collection.

Wszystkie pozostałe nazwy i znaki towarowe są własnością ich posiadaczy.

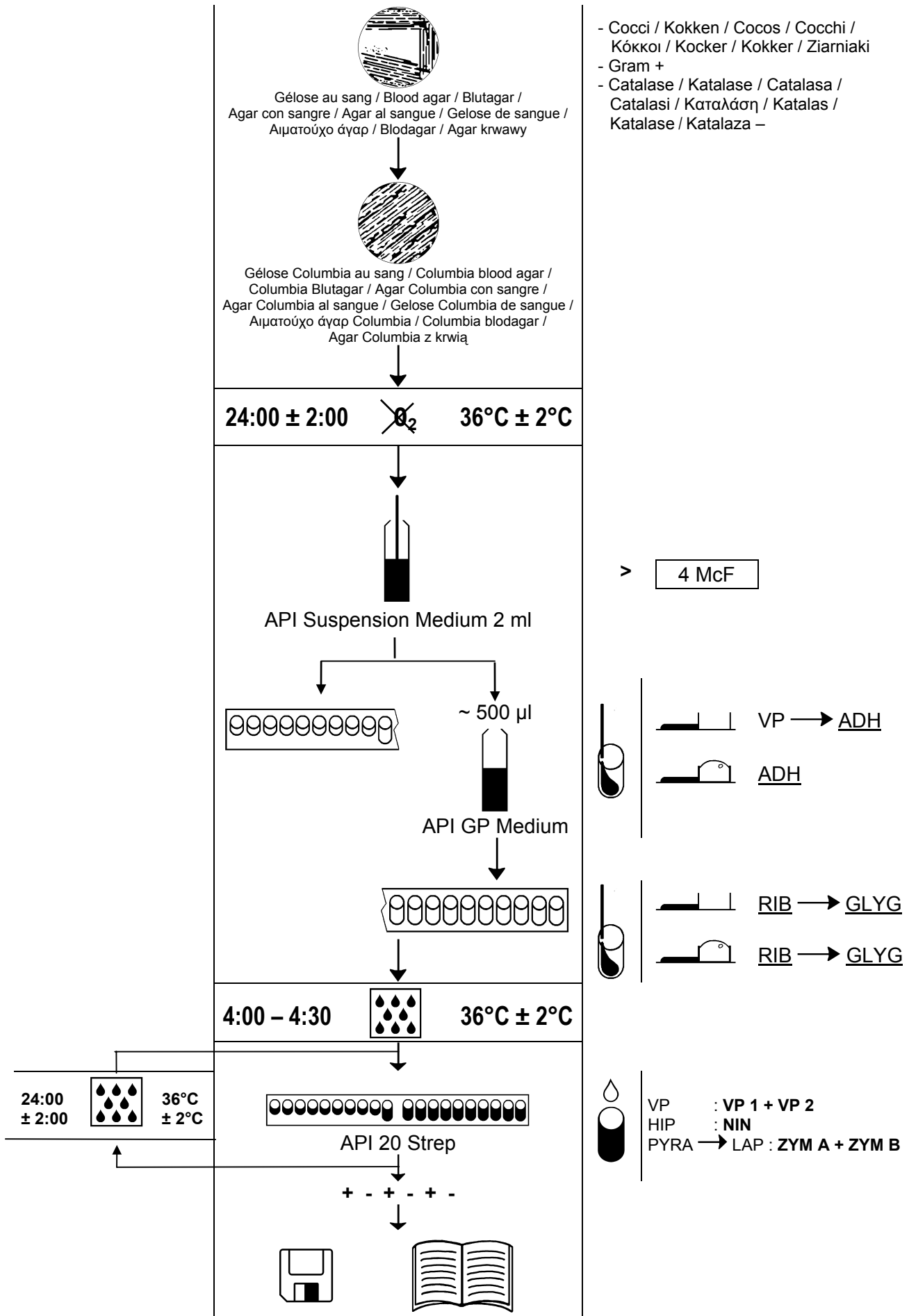


bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Wydrukowano we Francji



**METHODOLOGIE / PROCEDURE / METHODIK / TECNICA / PROCEDIMENTO /
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ / METOD / METODE / METODYKA**



**TABLEAU D'IDENTIFICATION / IDENTIFICATION TABLE / PROZENTTABELLE / TABLA DE IDENTIFICACION /
TABELLA DI IDENTIFICAZIONE / QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO / ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ /
IDENTIFIERINGSTABELL / IDENTIFIKATIONSTABEL / TABELA IDENTYFIKACYJNA**

% de réactions positives après 4/24 h à 36°C ± 2°C / % of reactions positive after 4/24 hrs. at 36°C ± 2°C /
% der positiven Reaktionen nach 4/24 h bei 36°C ± 2°C / % de las reacciones positivas después de 4/24 H a 36°C ± 2°C /
% di reazioni positive dopo 4/24 ore a 36°C ± 2°C / % das reacções positivas após 4/24 H a 36°C ± 2°C /
% θετικών αντιδράσεων μετά από 4/24 ώρες στους 36°C ± 2°C / % positiva reaktioner efter 4/24 timmar vid 36°C ± 2°C /
% positive reaktioner efter 4/24 timer ved 36°C ± 2°C / % pozytywnych reakcji po 4/24 godzinach w 36°C ± 2°C

API 20 STREP V7.0	VP	HIP	ESC	PYRA	AGAL	BGUR	BGAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG	HEM
<i>Abiotrophia defectiva</i>	25	0	15	99	100	0	100	0	92	0	0	0	0	0	98	100	5	92	99	0	0
<i>Aerococcus urinae</i>	3	99	24	12	0	52	41	50	92	28	28	0	32	13	56	64	1	1	40	0	0
<i>Aerococcus viridans</i> 1	13	50	96	54	33	16	37	1	5	1	83	33	85	70	83	99	33	41	70	33	1
<i>Aerococcus viridans</i> 2	15	70	50	76	10	20	25	1	5	5	25	1	35	2	70	89	1	5	24	1	5
<i>Aerococcus viridans</i> 3	22	88	99	40	85	48	14	14	1	1	8	2	82	5	91	99	37	99	14	1	1
<i>Alloiococcus otitis</i>	0	25	0	100	0	3	100	1	90	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus avium</i>	99	60	99	94	15	0	24	1	99	0	99	40	100	95	95	99	1	40	15	0	1
<i>Enterococcus durans</i>	100	43	100	97	32	2	76	1	91	100	99	15	2	0	84	76	0	0	56	0	18
<i>Enterococcus faecalis</i>	99	46	99	97	1	0	21	4	99	92	98	1	98	92	92	100	0	1	96	2	1
<i>Enterococcus faecium</i> *	94	43	99	95	42	1	89	1	97	93	85	70	78	18	84	98	15	10	60	3	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0	95	0	1	0	1	53	0	99	0	46	6	1	0	1	0	0	0	73	53	0
<i>Gemella haemolysans</i>	25	0	0	70	0	0	1	84	40	1	1	0	20	10	5	2	0	0	10	5	1
<i>Gemella morbillorum</i>	3	0	0	35	0	0	10	35	86	4	5	0	1	0	1	11	3	1	16	5	0
<i>Globicatella sanguinis</i>	4	40	98	40	52	16	100	0	9	0	76	95	71	47	76	100	71	95	100	90	0
<i>Granulicatella adiacens</i>	0	0	10	80	0	25	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	98	25	41	1	23	0	18	4	88	0	27	0	17	0	97	30	0	15	25	0	0
<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>lactis</i>	90	40	99	35	3	0	35	3	96	95	95	15	45	1	72	87	4	5	90	3	1
<i>Leuconostoc</i> spp	91	1	60	5	55	0	65	2	70	10	37	35	29	4	35	65	0	42	11	0	0
<i>Listeria</i> spp	97	79	98	0	0	0	0	0	85	0	6	0	0	0	49	92	1	1	72	0	26
<i>Streptococcus agalactiae</i> **	100	99	1	1	4	79	1	96	99	99	98	0	1	1	50	87	0	1	35	4	75
<i>Streptococcus anginosus</i>	100	0	100	0	44	0	1	99	100	100	0	0	33	0	99	88	0	44	97	0	37
<i>Streptococcus bovis</i> I	99	1	100	1	34	2	1	0	100	0	0	1	97	1	100	100	65	98	98	98	1
<i>Streptococcus bovis</i> II 1	100	0	1	0	58	0	0	0	100	0	0	0	0	0	90	0	0	97	97	97	0
<i>Streptococcus bovis</i> II 2	100	2	100	0	89	97	99	0	100	0	0	0	0	0	100	100	0	72	31	5	0
<i>Streptococcus bovis</i> II 3	99	1	100	0	99	0	6	0	100	0	0	0	0	0	100	6	6	100	93	0	0
<i>Streptococcus bovis</i> II 4	98	1	100	0	97	2	10	0	100	1	1	32	1	1	98	40	84	99	99	97	0
<i>Streptococcus canis</i>	0	1	25	4	95	1	80	100	100	100	100	0	0	0	99	1	0	1	99	0	100
<i>Streptococcus constellatus</i>	100	1	27	0	0	0	5	99	100	100	0	0	0	0	10	72	0	0	12	0	61
<i>Streptococcus dys.</i> ssp <i>dysgalactiae</i>	0	0	1	1	1	99	0	100	99	100	99	0	1	50	86	100	0	1	99	30	2
<i>Streptococcus dys.</i> ssp <i>equisimilis</i>	0	1	25	1	1	99	1	99	100	97	97	1	1	1	45	99	0	1	98	40	94
<i>Streptococcus equi</i> ssp <i>equi</i>	1	0	1	0	0	100	0	100	100	100	0	0	0	0	0	1	0	0	100	100	100
<i>Streptococcus equi</i> ssp <i>zooepidemicus</i>	0	1	15	0	0	100	1	99	100	99	85	0	0	99	100	0	0	0	99	99	99
<i>Streptococcus equinus</i>	100	0	95	0	28	0	1	1	100	0	0	0	30	0	25	7	25	15	17	10	0
<i>Streptococcus</i> group L	1	75	1	0	0	100	1	100	100	100	100	0	0	0	75	100	0	0	100	98	94
<i>Streptococcus intermedius</i>	100	0	87	0	0	0	44	99	100	100	0	0	0	0	99	99	3	3	99	0	40
<i>Streptococcus mitis</i> 1	1	0	3	1	21	0	25	35	99	19	14	1	0	1	94	7	3	26	67	5	0
<i>Streptococcus mitis</i> 2	0	0	3	0	31	0	35	50	100	99	1	0	1	0	100	1	1	31	84	0	0
<i>Streptococcus mutans</i>	99	0	99	1	64	0	1	1	100	18	0	0	99	90	90	100	81	81	1	0	1
<i>Streptococcus oralis</i>	0	0	1	1	50	0	46	72	100	5	1	0	1	0	99	32	1	72	96	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	0	39	60	70	3	79	3	100	57	3	1	0	0	99	98	64	87	84	10	1
<i>Streptococcus porcinus</i>	100	5	99	1	19	99	1	97	97	100	98	0	88	88	83	99	0	0	50	0	100
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0	1	5	98	0	15	0	100	100	99	0	0	8	1	99	98	0	1	61	22	98
<i>Streptococcus salivarius</i>	85	0	98	1	8	0	70	20	100	0	0	0	5	1	86	67	34	88	74	1	1
<i>Streptococcus sanguinis</i>	0	1	42	0	63	0	1	5	100	90	0	0	1	48	83	98	33	55	67	0	0
<i>Streptococcus suis</i> I	0	1	82	53	80	94	76	1	100	91	0	0	7	0	94	100	75	0	100	89	0
<i>Streptococcus suis</i> II	0	1	70	41	91	91	52	3	100	95	0	0	3	1	99	98	63	93	99	96	2
<i>Streptococcus uberis</i>	99	98	100	35	10	86	5	30	100	98	99	0	99	98	99	99	87	10	50	20	0

* si / if / wenn / se / εάν / om / hvis / gdy :
VancoR / VanR / VAN = R :

{ *Enterococcus casseliflavus*
ou / or / od. / o / ή / eller / lub
Enterococcus gallinarum }









possible / möglich / posible / possibile / possível / πιθανόν /
möjlig / mulig / możliwość.

** Voir § Limites du test / See § Limitations of the method / Siehe § Limitierungen / Ver § Límites del método / Vedere § Limiti del metodo /
Consultar § Limites do teste / Βλέπε § Περιορισμοί Μεθόδου / Se avsnittet "Metodens begränsningar" / Se § Metodens begrænsninger /
Patrz § Ograniczenia testu

**BIBLIOGRAPHIE / LITERATURE REFERENCES / LITERATUR /
BIBLIOGRAFIA / ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ / REFERENSLITTERATUR /
LITTERATURHENVISNINGER / PIŚMIENICTWO**

1. APPELBAUM P.C., CHAURUSHIYA P.S., JACOBS M.R., DUFFETT A.
Evaluation of the Rapid Strep System for Species Identification of Streptococci.
(1984) J. Clin. Microbiol., 19, 588-591.
2. BALL L.C., COLMAN G.
A Comparison of Conventional Methods and API Galleries for the Identification of Streptococci.
(1982) International Meeting on Streptococci and Streptococcal Diseases, LUND SWEDEN, 41-42.
3. BANNISTER M.F., BENSON C.E. and SWEENEY C.R.
Rapid Species Identification of Group C Streptococci Isolated from Horses.
(1985) J. Clin. Microbiol., 21, 524-526.
4. COLMAN G., BALL L.C.
Identification of Streptococci in a Medical Laboratory.
(1984) J. Appl. Bact., 57, 1-14.
5. FACKLAM R.R., RHODEN D.L., SMITH P.B.
Evaluation of the Rapid Strep System for the Identification of Clinical Isolates of *Streptococcus* Species.
(1984) J. Clin. Microbiol., 20, 894-898.
6. HUMAN R.P. and TILLOTSON G.S.
Identification of *Gardnerella vaginalis* with the API 20 Strep System.
(1985) J. Clin. Microbiol., 21, 985-986.
7. KLOOSTERMAN R.E., CULLEN K.D., McCLATCHEY K.D.
Comparison of Two Commercial Systems for the Rapid Identification of Streptococci.
(1984) ASM ST. LOUIS C198.
8. MacGOWAN A.P., MARSHALL R.J., REEVES D.S.
Evaluation of API 20 STREP System for Identifying *Listeria* Species.
(1989) J. Clin. Path., 42, 548-550.
9. RUOFF K.L., KUNZ L.J.
Use of the Rapid STREP System for Identification of Viridans Streptococcal Species.
(1983) J. Clin. Microbiol., 18, 1138-1140.
10. TILLOTSON G.S.
An Evaluation of the API 20 Strep System.
(1982) J. Clin. Path., 468-472.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute, M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline, Vol. 28 n° 23.

**TABLE DES SYMBOLES / INDEX OF SYMBOLS / SIMBOLE / CUADRO DE SIMBOLOS /
TABELLA DEI SIMBOLI / QUADRO DOS SÍMBOLOS / ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ /
SYMBOLER / SYMBOLFORTEGNELSE / TABELA SYMBOLI**

Symbole / Symbol Símbolo / Simbolo Σύμβολο	Signification / Meaning / Bedeutung Significado / Significato / Επεξήγηση Betydelse / Betydning / Znaczenie
	Référence du catalogue Catalogue number (GB) / Catalog number (US) Bestellnummer / Número de catálogo / Numero di catalogo Referência de catálogo / Αριθμός καταλόγου Katalognummer / Katalognummer / Numer katalogowy
	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Diagnostic Medical Device In Vitro Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositivo medico-diagnostico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Medicintekniska produkter för in vitro diagnostik Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik Wyrób do diagnostyki In Vitro
	Fabricant / Manufacturer / Hersteller / Fabricante Fabbicante / Κατασκευαστής / Tillverkare / Producent
	Limites de température / Temperature limitation Temperaturbegrenzung / Límite de temperatura Limiti di temperatura / Limites de temperatura Περιορισμοί θερμοκρασίας / Temperaturbegränsning Temperaturbegrænsning / Przestrzegać zakresu temperatury
	Utiliser jusque / Use by / Verwendbar bis Fecha de caducidad / Utilizzare entro / Prazo de validade Ημερομηνία λήξης / Använd före / Holdbar til / Użyć przed
	Code du lot / Batch code Chargenbezeichnung / Código de lote Codice del lotto / Código do lote Αριθμός Παρτίδας / Lot nummer / Lotnummer / Kod partii
	Consulter les instructions d'utilisation Consult Instructions for Use Gebrauchsanweisung beachten Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso Consulte as instruções de utilização Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Se handhavandebeskrivningen / Se brugsanvisning Sprawdź w instrukcji obsługi
	Contenu suffisant pour "n" tests Contains sufficient for <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi Conteúdo suficiente para "n" ensaios Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Räcker till "n" antal tester Indeholder tilstrækkeligt til "n" test Wystarczy na wykonanie <n> testów