

DTD

IVD

DIAGNOSTIC TEST DISCS

KRĄŻKI DO IDENTYFIKACJI I RÓŻNICOWANIA DROBNOUSTROJÓW NA PODSTAWIE SPECYFICZNYCH WŁAŚCIWOŚCI

WIELKOŚĆ ZESTAWU

REF

E171010 Bacitracin 0,04
E171011 Bacitracin 0,1
E171042 BV Factor
E171032 BX Factor
E171052 BVX Factor
E115023 Furazolidon 50
E115122 Furazolidon 100
E171061 Metronidazole 50
E112026 Trimethoprim 5
E111463 Novobiocin 5
E171021 Optochin
E171804 Oxidase
E191812 Sulphonamide 1000
E171041 V Faktor
E171031 X Faktor
E171051 V+X Faktor

1 x 50 krążków

5 x 50 krążków

WSTĘP

Krążki diagnostyczne nasyczone antybiotykiem lub inną substancją aktywną stosuje się do różnicowania bakterii. Średnica krążków wynosi 6 mm.

ZASADA METODY

Różnicowanie prowadzi się na podstawie wielkości stref zahamowania wzrostu wokół krążków.

SKŁAD ZESTAWU

Krążki wykonane z wysokiej klasy papieru, nasyczone antybiotykiem lub inną substancją aktywną.

MATERIAŁY WYMAGANE LECZ NIE DOSTARCZONE

Szczepy wzorcowe (dostępne w Emapolu).

Podłoże Mueller Hinton II, (dostępne w BioMaxima Ref.: 13170/P).

Podłoże Mueller Hinton II + 5 % KB, (dostępne w BioMaxima Ref.: 13172/P).

Podłoże TSA (dostępne w BioMaxima Ref.: 21181/P)

Podłoże wzrostowe z krwią Columbia Agar +5% KB (dostępne w BioMaxima Ref.: 03190/P).

Podłoże selektywne Gardnerella vaginalis

PRZECHOWYWANIE

- Przechowywać krążki w oryginalnych opakowaniach w temperaturze -20°C do +8°C.
- Przed użyciem umieścić krążki w temperaturze pokojowej na 1-2 godzin, w celu pozbycia się zawilgocenia krążków, po wyjęciu ich z lodówki.
- Data ważności dotyczy wyłącznie krążków przechowywanych zgodnie z instrukcją.

STABILNOŚĆ

Krążki diagnostyczne przechowywane w temperaturze zalecanej przez producenta, są stabilne do podanego terminu ważności podanego na opakowaniu.

WYKONANIE TESTU

BACITRACIN

WSTĘP

Krążki diagnostyczne Bacitracin 0,04 i.u. i/lub 0,1 i.u. wykorzystywane są do różnicowania paciorkowców β -hemolizujących, w szczególności należących do grupy A (*Streptococcus pyogenes*).

ZASADA METODY

Paciorkowce β -hemolizujące z grupy A są bardzo wrażliwe nawet na niewielkie stężenia bacytracyny. Obrazem tego są strefy zahamowania wzrostu wokół krążków nasączonych tym właśnie antybiotykiem. Paciorkowce β -hemolizujące należące do innych grup zazwyczaj wykazują oporność na bacytracynę, w konsekwencji nie tworząc stref zahamowania wzrostu wokół krążków.

WYKONANIE TESTU

- Test wykonuje się na podłożu MH II Agar + 5% KB, na który należy posiać wymazówką badany szczep z hodowli płynnej.
- Następnie na powierzchnię posianej płytki należy umieścić krążek nasączony bacytracyną.
- Przeprowadzić inkubację płytek w temp. 35°C przez 18-24h.
- Zinterpretować uzyskane wyniki.
- Równocześnie z identyfikacją szczepów badanych przeprowadzić kontrolę jakości wobec szczepów wzorcowych.

INTERPRETACJA

Strefa zahamowania wzrostu o średnicy co najmniej 12mm, wokół krążków Bacitracin 0,1 i.u. lub co najmniej 15mm strefa wokół krążków Bacitracin 0,04 i.u. wskazuje na prawdopodobną obecność paciorkowców grupy A (*Streptococcus pyogenes*). Wyniki mogą być potwierdzone przy użyciu innych testów lub na podstawie cech biochemicznych.

Stężenie bacytracyny na krążku	Występowanie strefy zahamowania wzrostu	Przynależność β -hemolizujących streptokoków
0,04 i.u.	+	grupa A
0,1 i.u.	+	grupa A
0,04 i.u.	-	grupa B i C
0,1 i.u.	-	grupa B i C

BVX FACTOR, BV FACTOR, BX FACTOR

WSTĘP

Krążki diagnostyczne BVX Factor, BV Factor, BX Factor stosuje się do różnicowania gatunków w obrębie rodzaju *Haemophilus*. Dodatek bacytracyny w krążkach zapewnia wzrost pałeczek z rodzaju *Haemophilus* hamując wzrost większości bakterii znajdujących się w badanym materiale.

ZASADA METODY

Bakterie z rodzaju *Haemophilus*, w zależności od gatunku, mogą wymagać do wzrostu równocześnie heminę (X) i NAD (V) bądź wyłącznie jeden z wymienionych składników odżywczych.

Poszczególne gatunki wyrastają wokół krążków jedynie w strefie nasyconej odpowiednim dla nich składnikiem odżywczym. Dzięki temu możliwe jest różnicowanie bakterii na poziomie gatunku.

WYKONANIE TESTU

1. Przygotować zawiesinę badanego materiału w soli fizjologicznej, uzyskując gęstość zawiesiny 0,5 w skali McFarlanda.
2. Wykonać posiew badanego materiału na podłoże TSA lub Mueller Hinton II, następnie nałożyć krążki BX Factor i BV Factor w odległości około 2 cm od siebie oraz nieco dalej krążek BVX Factor.
3. Inkubować zaszczerpione płytki przez 18-24 godzin, w temp. 35-37°C.
4. Zinterpretować otrzymane wyniki.
5. Równocześnie z identyfikacją szczepów badanych przeprowadzić kontrolę wobec szczepów wzorcowych

INTERPRETACJA

Poszczególne gatunki z rodzaju *Haemophilus* wyrastają w postaci drobnych przejrzystych kolonii, wyłącznie w strefie wokół krążków (pozostała powierzchnia płytki nie jest porośnięta). Szczegóły interpretacji zamieszczono w tabeli.

Tabela 1

Gatunek	Wzrost szczepów wokół krążka			Wzrost szczepów w strefie pomiędzy krążkami BX Faktor i BV Faktor
	BX Faktor	BV Faktor	BVX Faktor	
<i>H.influenze</i>	-	-	+	+
<i>H.aegyptus</i>	-	-	+	+
<i>H.parainfluenze</i>	-	+	+	+
<i>H.haemolyticus</i>	-	-	+	+
<i>H.parahaemolyticus</i>	-	+	+	+
<i>H.ducreyi</i>	+	-	+	+

W przypadku szczepu *H. influenzae* strefa wzrostu wokół krążków BVX Faktor wynosi 20 mm, podczas gdy szczep *H. parainfluenzae* tworzy strefy wzrostu, zazwyczaj o większym rozmiarze.

FURAZOLIDON 50 FURAZOLIDON 100

WSTĘP

Krążki diagnostyczne nasycone furazolidonem stosuje się do różnicowania bakterii z rodzaju *Staphylococcus* i *Micrococcus*.

ZASADA METODY

Szczepy z rodzaju *Micrococcus* są odporne na furazolidon w przeciwieństwie do rodzaju *Staphylococcus* wrażliwego na tę substancję. Różnicowanie rodzaju *Staphylococcus* i *Micrococcus* prowadzi się na podstawie wielkości stref zahamowania wzrostu wokół krążków.

WYKONANIE TESTU

1. Przygotować zawiesinę badanych bakterii w soli fizjologicznej uzyskując gęstość zawiesiny 0,5 w skali McFarlanda.
2. Wykonać posiew przygotowanej zawiesiny na płytki Mueller-Hinton II, następnie nałożyć krążki diagnostyczne.
3. Inkubować płytki w temp. 35-37°C przez 18-24 h.
4. Przeprowadzić interpretację wyników.
5. Równocześnie z identyfikacją szczepów badanych przeprowadzić kontrolę wobec szczepów wzorcowych.

INTERPRETACJA

Szczegóły interpretacji zamieszczono w tabeli poniżej.

Furazolidon 50

Rodzaj	Strefa zahamowania wzrostu wokół krążków nasyconych furazolidonem	Wrażliwość na furazolidon
<i>Staphylococcus</i>	≥ 16mm	wrażliwy
<i>Micrococcus</i>	< 16mm	oporny

Furazolidon 100

Rodzaj	Strefa zahamowania wzrostu wokół krążków nasyconych furazolidonem	Wrażliwość na furazolidon
<i>Staphylococcus</i>	≥ 15mm	wrażliwy
<i>Micrococcus</i>	< 15mm	oporny

METRONIDAZOLE 50 TRIMETHOPRIM 5 SULPHONAMIDE 1000

WSTĘP

Krążki diagnostyczne nasycone metronidazolem, trimethoprimem i sulphonamidem stosuje się do różnicowania szczepu *Gardnerella vaginalis* spośród flory bakteryjnej pochwy.

ZASADA METODY

Szczep *Gardnerella vaginalis* jest wrażliwy na metronidazol i trimethoprim oraz oporny na sulphonamid. Występowanie stref zahamowanego wzrostu wokół krążków nasyconych metronidazolem i trimethoprimem oraz brak strefy zahamowania wzrostu wokół krążków nasyconych sulphonamidem, pozwala zidentyfikować szczep *Gardnerella vaginalis*.

WYKONANIE TESTU

1. Materiał do badań pobrać z selektywnego podłoża do izolacji szczepów np. *Gardnerella vaginalis*

Posiać pobrany materiał na podłoże z krwią np.: Columbia Agar+5%KB, następnie nanieść krążki nasyczone metronidazolem, trimethoprimem i sulfonamidem.

2. Inkubować zaszczone płytki w temp. 37°C przez 18-24h w atmosferze 5% CO₂.
3. Przeprowadzić interpretację wyników.
4. Równocześnie z identyfikacją szczepów badanych przeprowadzić kontrolę wobec szczepów wzorcowych.

INTERPRETACJA

Występowanie wyraźnych stref zahamowania wzrostu wokół krążków nasasyconych metronidazolem i trimethoprim oraz brak stref zahamowania wzrostu wokół krążków nasasyconych sulphonamidem pozwala wstępnie zidentyfikować szczep *Gardnerella vaginalis*.

NOVOBIOCIN 5

WSTĘP

Krążki diagnostyczne nasyczone novobiocyną stosuje się do wstępnej identyfikacji *Staphylococcus saprophyticus*.

ZASADA METODY

S. saprophyticus jest odporny na novobiocynę w przeciwieństwie do koagulazujemnych gronkowców, które w większości wypadków wykazują wrażliwość na novobiocynę. Wstępną identyfikację *S. saprophyticus* prowadzi się na podstawie stref zahamowania wzrostu.

WYKONANIE TESTU

1. Przygotować zawiesinę badanego materiału w soli fizjologicznej, uzyskując gęstość zawiesiny 0,5 w skali Mc Farlanda.
2. Wykonać posiew bakterii na podłoże z krwią (np.: Columbia-Agar + 5% KB), następnie nałożyć krążki z novobiocyną.
3. Inkubować płytki w temp. 35-37°C przez 18-24h.
4. Przeprowadzić interpretację wyników.
5. Równocześnie z identyfikacją szczepów badanych przeprowadzić kontrolę wobec szczepów wzorcowych.

INTERPRETACJA

Szczep *S. saprophyticus* jest odporny na novobiocynę, tworzy wokół krążków strefy zahamowania wzrostu o średnicy mniejszej lub równej 16 mm. Pozostałe gronkowce koagulazujemne są w większości wrażliwe na novobiocynę, tworzą strefy zahamowania wzrostu o średnicy co najmniej 17 mm.

OPTOCHIN DISCS

WSTĘP

Krążki diagnostyczne nasyczone optochiną stosuje się do różnicowania *Streptococcus pneumoniae* spośród α -hemolitycznych Streptokoków.

ZASADA METODY

Streptococcus pneumoniae jest wrażliwy na optochinę, w przeciwieństwie do pozostałych streptokoków α -hemolizujących wykazujących oporność na tą substancję.

Identyfikację *Streptococcus pneumoniae* prowadzi się na podstawie stref zahamowania wzrostu.

WYKONANIE TESTU

1. Wykonać posiew α -hemolizujących paciorkowców na podłożu z krwią Mueller Hinton + 5% KB, następnie nanieść krążek Optochin
2. Przeprowadzić inkubację płytek w temp. 35-37°C przez 18-24h, w atmosferze 10% CO₂.
3. Zinterpretować uzyskane wyniki.
4. Równocześnie z identyfikacją szczepów badanych przeprowadzić kontrolę wobec szczepów wzorcowych.

INTERPRETACJA

Szczep *Streptococcus pneumoniae*, wrażliwy na optochinę, tworzy wokół krążków strefę zahamowania wzrostu o średnicy od 12 do 35 mm. Dla pozostałych α -hemolizujących streptokoków strefy zahamowania wzrostu są minimalne lub zerowe.

Do kontroli krążków Optochin zaleca się stosowanie szczepów wzorcowych zestawionych w tabeli poniżej.

Szczep wzorcowy	Strefa zahamowania wzrostu wokół krążków OPTOCHIN
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	12-35mm
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Brak strefy

OXIDASE

WSTĘP

Krążki diagnostyczne Oxidase stosuje się do wykrywania szczepów produkujących enzym oksydazę.

ZASADA METODY

Badany szczep rozprowadza się na powierzchni krążka a następnie obserwuje zachodzącą reakcję barwną. Pod wpływem drobnoustrojów produkujących enzym oksydazę kolor krążka zmienia się na purpurowoniebieski.

WYKONANIE TESTU

1. Umieścić krążek na odpowiedniej powierzchni np.: szkiełko mikroskopowe.
2. Rozprowadzić kilka kolonii na powierzchni krążka, przy użyciu drewnianej wymazówki (niklowochromowa eza wpływa na zafałszowanie wyników). Do badań stosować świeże kultury bakterii.
3. Obserwować reakcję barwną zachodzącą na krążku w przeciągu 10-15 sekund od naniesienia bakterii.
4. Alternatywnie można przygotować zawiesinę badanego szczepu w sterylnej destylowanej wodzie, uzyskując gęstość zawiesiny 3 w skali McFarlanda. Przenieść 1 ml przygotowanej zawiesiny do sterylnej probówki, dodać do niej krążek OXIDASE i pozostawić w temperaturze pokojowej przez 15 minut. Obserwować reakcję barwną zachodzącą na powierzchni krążka.
5. Przeprowadzić badanie kontrolne wobec szczepów wzorcowych.

INTERPRETACJA

Reakcja pozytywna:

Zmiana koloru krążka na purpurowoniebieski zachodzi najczęściej w przeciągu 10-15 sekund od momentu naniesienia bakterii na krążek. Jednakże niektóre bakterie oksydazododatnie wywołują reakcję barwną w czasie 15-60 sekund od wykonania testu (reakcja opóźniona). W przypadku umieszczenia krążka w zawieszynie badanych bakterii, reakcja barwna zachodzi w przeciągu 15 minut.

Reakcja negatywna:

Szczepy oksydazoujemne nie wywołują zmiany barwy krążków lub zmiana barwy zachodzi po czasie 60 sekund od momentu nałożenia bakterii.

Przykładowe szczepy wzorcowe do kontroli krążków Oxidase zamieszczono w tabeli poniżej.

Szczep	Reakcja
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	pozytywna
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	negatywna
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 19424	pozytywna
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	negatywna

V FAKTOR X FAKTOR V+X FAKTOR

WSTĘP

Krążki diagnostyczne V+X Faktor, V Faktor, X Faktor stosuje się do różnicowania gatunków w obrębie rodzaju *Haemophilus*.

ZASADA METODY

Bakterie z rodzaju *Haemophilus*, w zależności od gatunku, mogą wymagać do wzrostu równocześnie heminę (X) i NAD (V) bądź wyłącznie jeden z wymienionych składników odżywczych.

Poszczególne gatunki wyrastają wokół krążków jedynie w strefie nasyconej odpowiednim dla nich składnikiem odżywczym. Dzięki temu możliwe jest różnicowanie bakterii na poziomie gatunku.

WYKONANIE TESTU

- Przygotować zawieszinę badanego materiału w soli fizjologicznej, uzyskując gęstość zawiesiny 0,5 w skali McFarlanda.
- Wykonać posiew badanego materiału na podłoże TSA lub Mueller Hinton II, następnie nałożyć krążki X Faktor i V Faktor w odległości około 2 cm od siebie oraz nieco dalej krążek X+V Faktor.
- Inkubować zaszczipione płytki przez 18-24 godzin, w temp. 35-37°C.
- Zinterpretować otrzymane wyniki.
- Równocześnie z identyfikacją szczepów badanych przeprowadzić kontrolę wobec szczepów wzorcowych

INTERPRETACJA

Poszczególne gatunki z rodzaju *Haemophilus* wyrastają w postaci drobnych przejrzystych kolonii, wyłącznie w strefie wokół krążków (pozostała powierzchnia płytki nie

jest porośnięta). Szczegóły interpretacji zamieszczono w tabeli.

Tabela 1

Gatunek	Wzrost szczepów wokół krążka			Wzrost szczepów w strefie pomiędzy krążkami X Faktor i V Faktor
	X Faktor	V Faktor	X+V Faktor	
<i>H.influenzae</i>	-	-	+	+
<i>H.aegyptus</i>	-	-	+	+
<i>H.parainfluenzae</i>	-	+	+	+
<i>H.haemolyticus</i>	-	-	+	+
<i>H.parahaemolyticus</i>	-	+	+	+
<i>H.ducreyi</i>	+	-	+	+

W przypadku szczepu *H. influenzae* strefa wzrostu wokół krążków V+X Faktor wynosi 20 mm, podczas gdy szczep *H. parainfluenzae* tworzy strefy wzrostu, zazwyczaj o większym rozmiarze.

UWAGI

- Zastosowanie wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Zaleca się przeprowadzenie dodatkowych badań biochemicznych w celu potwierdzenia wyników.
- Używać zgodnie z wytycznymi, wszelkie odstępstwa od standaryzowanej metodyki mogą wpłynąć na zafałszowanie wyników.

LITERATURA

- Szewczyk E. M.: *Diagnostyka bakteriologiczna*, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2013.

Aktualizacja : 05.2017 (BG)



Tabela symboli

	Zajrzyj do instrukcji używania		Sprawdź w instrukcji obsługi		Wytwórca
	Wyrób do diagnostyki in vitro		Kod partii (numer serii)		Numer katalogowy
	Przestrzegać zakresu temperatur		Użyć przed		

BioMaxima



BioMaxima S.A.
Vetterów 5
20-277 Lublin
Poland

Microbiology Center
Budowlanych 68
80-298 Gdańsk
Poland

phone: +48 58 556 52 46
fax: +48 58 341 12 49
office.cm@biomaxima.com
www.biomaxima.com

